

# Studien über Atmung und tote Oxydation

von

Dr. Viktor Grafe.

Aus dem pflanzenphysiologischen Institut der k. k. Universität in Wien.

(Mit 1 Tafel und 1 Textfigur.)

(Vorgelegt in der Sitzung am 30. März 1905.)

Seit Buchner's Entdeckung der zellfreien Gärung, seit der Isolierung der Zymase, läßt sich ein neuer Einschlag in der Richtung konstatieren, welche die biochemischen Erklärungsversuche für die Lebensvorgänge der Pflanze nehmen. Zahlreiche Prozesse, für welche die Lebenstätigkeit des Protoplasmas schlechtweg die einzige Erklärung bildete, werden seitdem als Resultate von Enzymwirkungen dargestellt, die mit der eigentlichen plasmatischen Tätigkeit nur insoferne zusammenhängen, als natürlich erst durch diese die Produktion der Enzyme erfolgt. Zunächst waren es die Vorgänge der intramolekularen und normalen Atmung, welche man auf Enzymwirkungen zurückzuführen suchte, worauf ich später noch zurückkommen werde. Auch bezüglich der Kohlensäureassimilation wurden vor einiger Zeit derartige Anschauungen ausgesprochen. Wenigstens gaben Friedel<sup>1</sup> und Regnard<sup>2</sup> an, es sei ihnen gelungen, außerhalb der pflanzlichen Zelle und unabhängig vom lebenden

---

<sup>1</sup> Comptes rend., 132, 1138 (1901), Jean Friedel; L'assimilation chlorophyllienne réalisée en dehors de l'organisme vivant.

<sup>2</sup> Ebendas., 101, 1293.

Plasma mit toten Extraktivstoffen der betreffenden Pflanzen »Photosynthese« zu bewirken. Während Kny,<sup>1</sup> Harroy,<sup>2</sup> Jodin<sup>3</sup> und Herzog<sup>4</sup> diese Behauptung nicht bestätigen konnten, stimmte Macchiati<sup>5</sup> derselben auf Grund eigener Versuche zu, führt das Mißlingen der ebendahin abzielenden späteren Versuche Friedel's<sup>6</sup> auf äußere Umstände zurück und nimmt wie schon früher Baranetzky<sup>7</sup> an, daß der wesentliche Faktor der Assimilation ein Enzym sei, das sich aus dem Glyzerinextrakte der Blätter, vorausgesetzt, daß diese zur richtigen Zeit verwendet werden, durch Benzol fällen lasse. Molisch<sup>8</sup> wiederholte Friedel's Versuche unter Anwendung der außerordentlich feinen Leucht-bakterienmethode zur Konstatierung des abgegebenen Sauerstoffs; er fand Friedel's Angaben ebenfalls nicht bestätigt, sprach sich aber trotzdem dahin aus, daß der Anschauung, die Kohlensäureassimilation sei an die lebende Substanz geknüpft, keine allgemeine Bedeutung zukomme und dies auf Grund der Tatsache, daß Blätter von *Lamium album*, die bei 35° C. getrocknet, rauschdürr und sicherlich nicht mehr lebensfähig waren, noch immer Kohlensäure aufnehmen und Sauerstoff abgaben. Nun ist es aber vielleicht nicht ganz statthaft, von einer postmortalen Assimilation zu sprechen, da man nicht ohneweiters sagen kann, der Organismus sei tot, wenn er nicht mehr lebensfähig ist. Gewiß waren die bei 35° C. getrockneten *Lamium*blätter nicht mehr lebensfähig; nun hat aber Wiesner<sup>9</sup> einige Fälle angeführt, wo durch Frost und Regen nach vorhergegangener Trockenperiode Blätter in vollkommen intaktem, lebendem Zustand abgefallen waren. Diese sind dann allerdings nicht mehr entwicklungsfähig, ohne daß sie deshalb

<sup>1</sup> Bericht der D. bot. Ges., 15, 388.

<sup>2</sup> Comptes r., 133, 890.

<sup>3</sup> Ebendas., 102, 767.

<sup>4</sup> Hoppe-Seyler's Zeitschrift für physiol. Chemie, 35, 459.

<sup>5</sup> Comptes r., 135, 1128.

<sup>6</sup> Ebendas., 133, 840. Sur l'assimilation chloroph. en automne.

<sup>7</sup> E. v. Lippmann, Chemie der Zuckerarten, II, 1756.

<sup>8</sup> Bot. Zeitg., 62. Jahrg. (1904). Heft 1.

<sup>9</sup> Wiesner, Über Frostlaubfall. Ber. der D. bot. Ges. H. 23, p. 49 (1905).

tot zu nennen wären. Sie zeigen z. B. noch längere Zeit hindurch eine ganz regelrechte Atmung, sie nehmen Sauerstoff auf und geben Kohlendioxyd ab.

Um nicht mißverstanden zu werden, möchte ich hier einschalten, daß, wie bekannt, Samen, Sporen in ihrem Entwicklungsvermögen nichts verlieren, wenn sie auch lufttrocken geworden waren. Wiesner<sup>1</sup> hat gezeigt, daß man Hefe absolut wasserfrei machen kann, ohne daß sie, wenn die spätere Wasserzufuhr nur allmählich geschieht, die Fähigkeit zur Weiterentwicklung verlieren würde. Aber Blätter und wohl alle Vegetationsorgane verlieren durch Austrocknen das Vermögen der Weiterentwicklung; ob sie im eingetrockneten Zustande als tot zu bezeichnen sind, ist eine andere Frage. Es sollte nachgewiesen werden, wie sich nun trocken gewordene Hefe oder die Blätter verhalten, wenn man sie rücksichtlich ihrer Oxydation mit normal atmender Hefe, beziehungsweise Blättern vergleicht.

Von diesen Betrachtungen ausgehend, gelangte ich auf Veranlassung des Herrn Hofrates Professor Dr. Julius Wiesner dazu, das Phänomen der Atmung bei pflanzlichen Organismen unter verschiedenen Verhältnissen, sowohl bei solchen, die durch gewöhnliche Temperatur trocken geworden waren, als auch namentlich bei Einfluß hoher Temperaturen, zu studieren. Das erste Moment, welches ich konstatieren konnte, war eine verhältnismäßig hohe Resistenz des lebenden Plasmas gegen die Einwirkung hoher Temperaturen bei Hefe. Aber selbst nach dem Einwirken von Temperaturen, bei denen eine Erhaltung des Lebens unmöglich mehr angenommen werden konnte, zeigte sich ein, wenn auch erheblich schwächerer, so doch immerhin völlig bestimmbarer Gaswechsel im Sinne der Atmung bei den betreffenden Organismen. Diese Erscheinung ist es, welche Wiesner mit dem Worte »tote Oxydation« bezeichnet. Nachdem im hiesigen Institut unter Wiesners Leitung durchgeführte qualitative Versuche von H. Hruby (noch nicht veröffentlicht) ergeben hatten, daß sowohl durch ein-

---

<sup>1</sup> J. Wiesner, Mikroskop. Untersuchungen, Stuttgart 1872.

faches Trocknen an der Luft veränderte, als auch durch verschieden hoch getriebene Temperaturen getrocknete Blätter noch evident  $\text{CO}_2$  abgaben, wenn sie auf den früheren Wassergehalt gebracht wurden, ging ich daran, die bezüglichlichen quantitativen Verhältnisse unter allen Vorsichtsmaßregeln der Asepsis zu ermitteln.

### Methode:

Zur Analyse des aufgenommenen, respektive der abgegebenen Gase bediente ich mich der Absorptionsmethode mit nachfolgender Wägung;<sup>1</sup> denn diese Methode eignet sich nach Hempel<sup>2</sup> sehr gut zur Bestimmung ganz kleiner Gasquantitäten in einem großen Volumen anderer Gase. Zur Aufnahme des zu untersuchenden Objektes diente der Rundkolben *A* (Fig. 1), dessen weiter Hals durch einen gut schließenden Kautschukstöpsel geschlossen war. In den kreisrunden Ausschnitt dieses Stöpsels war die Hülse *h* eng eingepaßt, deren unterer Rand matt geschliffen ist. Das obere Ende der Hülse trägt wieder einen Kautschukstöpsel, durch dessen Bohrung eine Meßbürette mit Glycerin sorgfältig eingepaßt ist, deren oberes Ende ein kubisiertes Gefäß zur Aufnahme einer Flüssigkeit, deren unteres Ende ein Glaskörbchen *k* für das Untersuchungsobjekt trägt, derart, daß die Spitze der Bürette ins Körbchen etwas hineinragt. Durch Auf- und Abwärtsbewegen der Bürette kann man das Körbchen, welches in die Hülse eingerieben ist, so in dieselbe hineindrehen, daß der Inhalt des Körbchens gasdicht gegen den Kolbenraum abgeschlossen ist, respektive das Körbchen samt Inhalt in Kontakt mit dem Kolben bringen (Fig. 2). Man hat es nun in der Hand, beliebige Bedingungen im Kolben herzustellen, Luftleere oder Füllung mit einem Gas, das Objekt aber erst dann unter diese Bedingungen zu bringen, wenn man es wünscht. War das Einhalten dieser Maßregeln nicht notwendig,

<sup>1</sup> Fresenius, Quantit. Analyse II, 754. Pfeffer, Pflanzenphysiologie I, 528. Chudiakow, Landw. Jahrb., Bd. 23, 400. Tafel II (1894); Kreusler, l. c. 14, 916.

<sup>2</sup> Hempel, Gasanalytische Methoden, III. Aufl. (1900), p. 93, 94.

so bediente ich mich eines ganz ähnlichen Kolbens, nur ohne Hülse, aber mit einem Glaskörbchen, welches mittels Platindrahtes an zwei Glashäkchen der Bürette zu befestigen war und den Vorteil bot, für sich gewogen werden zu können. In den Bauch, respektive Hals des Kolbens waren die mit Glashähnen versehenen Röhren *p* und *r* eingelassen, welche ein Durchspülen des Kolbens mittels eines Gases ermöglichten. Die entwickelte  $\text{CO}_2$  wurde durch Absorption mittels Natronkalkröhren und nachfolgende Wägung quantitativ ermittelt. Zur Bestimmung des aufgenommenen Sauerstoffes ging ich folgendermaßen vor: Die gewogene Menge des betreffenden Organismus wurde in das Körbchen gebracht, der Kolben geschlossen und hierauf mittels der Wasserstrahlpumpe ein Vakuum von 10 *mm* erzeugt. Hierauf wurde das Körbchen eingedreht und durch Rohr *p* aus der Sauerstoffbombe unter Geschlossenhalten aller übrigen Hähne vorsichtig ein Sauerstoffstrom in den Kolben geschickt, wobei natürlich darauf zu achten war, daß die Waschflasche, welche das Gas, bevor es in den Kolben gelangte, zu passieren hatte, mit Sauerstoff gefüllt war. Als das Aufhören des Aufsteigens von Gasblasen in der Waschflasche das völlige Erfülltsein des Kolbens mit Sauerstoff anzeigte, was jederzeit gelingt, wenn die Gaszufuhr sorgfältig reguliert ist, wurde der Glashahn *p* und die Bombe geschlossen und das Körbchen samt Inhalt durch Hinunterdrehen unter Sauerstoffatmosphäre gesetzt. Durch wiederholte Versuche war der Inhalt des Kolbens genau ermittelt worden, indem unter völlig gleichen Bedingungen, wie eben dargelegt (Auspumpen auf 10 *mm* und mit eingedrehtem Körbchen), eine Füllung mit Sauerstoff bewerkstelligt, der Sauerstoff dann herausgesogen, in gleich zu beschreibenden Absorptionsapparaten aufgefangen und seine Menge durch die Gewichtszunahme derselben bestimmt wurde. Die Füllung geschah jedesmal bei der thermostatisch festgehaltenen Temperatur von 25° und bei der Rechnung wurde naturgemäß der herrschende Barometerstand berücksichtigt. Auf diese Weise war jedesmal die Sauerstoffmenge genau gegeben, welche dem Organismus zur Verfügung stand; die Differenz zwischen dieser und der nach der Operation zurückgebliebenen, durch



Absorption und Gewichtszunahme ermittelten Sauerstoffquantität gab dann die Sauerstoffmenge an, welche der Organismus verbraucht hatte. Soweit die Versuche mit grünen Blättern ausgeführt wurden, war dafür Sorge getragen, daß zur Verhütung etwaiger Assimilationsvorgänge der Kolben mit einem schwarzen Tuch umhüllt war. Die Temperatur des Raumes schwankte zwischen 15—19° C. Die Absorption des Sauerstoffes wurde nach dem Lindemann'schen Verfahren durch gelben Phosphor vorgenommen. Die Phosphorstangen wurden hiezu bei 48° unter Wasser in einem engen, hohen Becherglas geschmolzen und in die geschmolzene Masse ein konisches Glasröhrchen von etwa 2—3 mm Weite getaucht; schließt man die eine Seite des Röhrchens mit dem Finger und hebt dasselbe aus dem Phosphor in eine bereitstehende Schale mit kaltem Wasser, so erstarrt das in die Röhre eingedrungene Phosphorquantum zu einer dünnen Stange, die beim Erkalten ihr Volumen so vermindert, daß sie von selbst in das Wasser fällt. Derartige Phosphorstängelchen wurden in ein von mir konstruiertes Absorptionsgefäß so gefüllt, daß sie dasselbe zu drei Vierteln ausfüllten und die Zwischenräume mit destilliertem Wasser gefüllt. Die einfache Handhabung des Gefäßes ist aus Fig. III ersichtlich. Der Glasstöpsel *g* ist derart eingerieben, daß durch eine einfache Drehung des Stöpselgriffes die Kommunikation des Gefäßes mit dem eingeschmolzenen Röhrchen *a*, welches die Verbindung mit dem Entwicklungskolben vermittelt, hergestellt, beziehungsweise unterbrochen werden kann (Fig. IV). Ist eine derartige Kommunikation hergestellt (Stellung 1 in Fig. III), so ist durch die Bohrung *k* des Glasstöpsels auch die Verbindung mit dem Gasableiterröhrchen *b* bewirkt. An das Phosphorgefäß ist ein U-förmiges Chlorcalciumrohr angeschmolzen, welches eventuell entweichende Feuchtigkeit zurückhält. Die in den Stöpsel eingelassene Röhre *r*, welche eben zur Einleitung des Gases in den Apparat dient, reicht bis auf den Boden, so daß das Gas durch die ganze Phosphorschichte hindurchstreichen muß und trägt zur Vergrößerung der Absorptionsfläche eine Siebplatte. Die Kugel in der Mitte dient dazu, eventuelles Zurücksteigen von Wasser zu vermeiden. Alle in Verwendung

gelangenden Hähne sind wie überhaupt bei dem ganzen Apparat eingeriebene Glashähne. Das Absorptionsgefäß wiegt vollkommen montiert und gefüllt samt der gefüllten Chlorcalciumröhre 120 g;<sup>1</sup> zur Absorption des Sauerstoffes waren zwei derartige Gefäße hintereinandergeschaltet. Der gelbe Phosphor absorbiert bekanntlich sehr begierig und vollständig den Sauerstoff unter Leuchten und man konnte das Ende der Absorption im Dunkeln jedesmal sehr schön am Aufhören dieses Leuchtens erkennen. Die Oxydationsprodukte des Phosphors lösen sich in Wasser, so daß sich die frische Absorptionsoberfläche des Phosphors von selbst erneuert, wenn das Wasser zeitweilig durch frisches ersetzt wird, was nach je fünf Analysen geschah. Der Phosphor hingegen ist unbegrenzt lange gebrauchsfähig, vorausgesetzt, daß er vor der Einwirkung des Lichtes geschützt wird. Die Absorptionsgefäße wurden daher nach jeder Operation sorgfältig mit einem lichtdichten schwarzen Kasten bedeckt. Zur Absorption der  $\text{CO}_2$  dienten mit körnigem Natronkalk<sup>2</sup> gefüllte U-Röhren und nicht Kaliapparate, da, wie Hasiwetz<sup>3</sup> gezeigt hat, die Kalilauge nicht nur  $\text{CO}_2$ , sondern auch  $\text{O}_2$  absorbiert. An den Entwicklungskolben links angeschlossen ward eine U-Röhre mit  $\text{CaCl}_2$ , an diese noch eine zweite ebensolche und schließlich eine gerade, mit Phosphorsäureanhydrid gefüllte Kugelhöhre, alle drei zum Trocknen der entwichenen Gase, hierauf eine U-Röhre mit Natronkalk und eine zweite, zur Hälfte mit  $\text{CaCl}_2$ , zur Hälfte mit Natronkalk gefüllt, ersteres, um aus dem Natronkalk entwickeltes Wasser zurückzuhalten. Dann folgten die beiden Phosphorgefäße mit ihren  $\text{CaCl}_2$ -Röhren, schließlich noch eine letzte  $\text{CaCl}_2$ -Röhre und ein Blasenähler, der mit konzentrierter Schwefelsäure gefüllt, aber nicht gewogen wurde, sondern nur dazu diente, von außen keine Feuchtigkeit in den Apparat dringen zu lassen. Die Verbindung mit der Saugpumpe wurde durch eine Leiser'sche Druckflasche her-

---

<sup>1</sup> Sämtliche Apparate wurden nach meinen Angaben vom hiesigen Glasbläser Herrn C. Woytacek, IX. Frankgasse, verfertigt.

<sup>2</sup> Fresenius, Quantitative Analyse II, 755.

<sup>3</sup> Chem. Zentralblatt 1856, p. 517.

gestellt und so für eine beliebige Regulierung des Gasstromes Sorge getragen. Es ist noch zu erwähnen, daß die frisch-gefüllten  $\text{CaCl}_2$ -Rohre vorher mit reiner  $\text{CO}_2$  gesättigt und sodann zwei Stunden Luft durchgeleitet wurde, da bekanntlich frisches  $\text{CaCl}_2$  etwas  $\text{CO}_2$  absorbiert. Die Natronkalkröhren wurden nach je drei Operationen frisch gefüllt. Die Schlauchverbindungen wurden durchwegs mit kurzen Vakuumschläuchen hergestellt und dafür gesorgt, daß die Röhren der aneinander geschalteten Gefäße sich unmittelbar in denselben berührten. Die Phosphorgefäße werden während der Operation zweckmäßig von Zeit zu Zeit geschüttelt. Rechts an den Entwicklungskolben ist ein Röhrensystem angeschlossen, abwechselnd mit  $\text{CaCl}_2$  und kaustischem Kali gefüllt; daran reihen sich zwei mit Phosphor gefüllte Sauerstoffabsorptionsgefäße und an diese wieder ein Röhrensystem mit  $\text{CaCl}_2$  und Natronkalk abwechselnd gefüllt. Diese Vorrichtung diente dazu, um zum Zwecke des Nachspülens Luft durch die Apparatur zu leiten und diese Luft vorher völlig von  $\text{CO}_2$ , Feuchtigkeit und Sauerstoff zu befreien.

### I. Versuchsreihe:

Die ersten Versuche führte ich mit der Hefe, als einem einfachen Organismus aus. Verschieden hoch erhitzte, vorher getrocknete Hefe wurde in eine Sauerstoffatmosphäre gebracht und der Gaswechsel gemessen. Hierbei schien es mir nicht uninteressant, zu untersuchen, wie lange und in welchem Grade die Gärkraft der Hefe unter diesen Umständen erhalten blieb. Diese Frage hat bekanntlich unter den ersten Wiesner<sup>1</sup> zu entscheiden gesucht. Unter seiner Leitung vollendete auch Marie Manasseïn<sup>2</sup> eine Arbeit, welche der Buchner'schen Entdeckung präludierte und nur, weil sie in die Glanzepoche der Pasteur'schen Theorie fiel, wenig beachtet und erst in neuerer Zeit wieder ans Licht gezogen wurde.

<sup>1</sup> Wiesner, Mikroskopische Untersuchungen, Stuttgart 1872, p. 98.

<sup>2</sup> L. c. p. 116.



Wiesner zeigte, daß durch Operationen, welche geeignet sind, den Hefezellen Wasser zu entziehen, durch Evakuieren, Anwendung wasserentziehender Flüssigkeiten, Erhitzen auf höhere Temperatur durch Ausdehnung der Vakuolen schließlich das Plasma eingerissen wird, so daß sich die Vakuolenflüssigkeit in dasselbe ergießt. Solche Zellen nennt er abnorm vakuolisiert. Hefezellen, welche in einer Flüssigkeit erhitzt wurden, zeigten bei zirka 70° abnorme Vakuolisierung, in fein verteiltem Zustand trocken erhitzt, waren schon bei 45° sämtliche Zellen abnorm vakuolisiert. Doch konnte Wiesner zeigen, daß selbst auf 100° durch mehrere Stunden erhitzte Hefe nicht völlig tot war, sondern in Zuckerlösung noch sproßte und Gärung hervorzurufen vermochte, da die jungen, noch nicht vakuolisiert gewesenen Zellen bei dieser Temperatur noch nicht zu Grunde gegangen waren. Auch die Versuche Hoffmann's<sup>1</sup> wurden wiederholt, welcher bei auf 215° erhitzter trockener Hefe in Zuckerlösung noch hatte Gärung konstatieren können. Marie Manassein führte Gärversuche mit verschieden hoch erhitzter Hefe (Temperatur bis zu 245°) aus und konnte jedesmal das Auftreten von CO<sub>2</sub> und Alkohol dabei nach kürzerer oder längerer Zeit feststellen. Sie sprach auf Grund dieser Versuche den Satz aus,<sup>2</sup> daß lebende Hefezellen zur alkoholischen Gärung nicht notwendig seien, sondern daß das spezifische Ferment der Gärung in der lebenden Hefezelle selbst gebildet werde, ein Satz, der bekanntlich 25 Jahre später durch Buchner vollinhaltlich bestätigt wurde.

Meine Versuche mit verschieden hoch erhitzter Hefe wurden unter Zuhilfenahme folgender Kulturflüssigkeiten angestellt: 1. 10prozentige Zuckerlösung. 2. destilliertes Wasser. 3. eine Lösung enthaltend 5% Asparagin + 5% Chinasäure.

### 1. Hefe in Zuckerlösung.

Es wurde St. Marxer Preßhefe verwendet, welche ein verhältnismäßig reines Produkt darstellt. Die Hefe wurde nach

<sup>1</sup> Naturgeschichte der Hefe: Karstens bot. Unters. I, 341.

<sup>2</sup> Wiesner, Mikroskop. Unters., p. 128.

Buchner's<sup>1</sup> Vorschrift mehrmals mit destilliertem Wasser gewaschen, auf dem Büchnertrichter mittels der Pumpe abgepreßt, von anhaftendem Wasser zwischen Preßtüchern sorgfältig befreit, hierauf in ganz dünner Lage auf bei 150° im Trockenschrank sterilisierten Filtrierpapierbogen unter eine gut abgeflamnte und mit Sublimatlösung 1 : 1000 gewaschene Glasglocke gebracht, in deren Tubus ein doppelt durchbohrter Kautschukstöpsel eingepaßt war; vermittels Glasröhren war nun einerseits die Verbindung mit einer mit Pyroxylin gefüllten Röhre, die ihrerseits an einen Rundkolben angeschlossen war, hergestellt, andererseits durch eine ebensolche Röhre mit der Luftpumpe. In den Rundkolben, welcher durch eine Bunsenflamme geheizt war, gelangte die Luft durch eine Waschflasche mit konzentrierter Schwefelsäure, wurde im Kolben sterilisiert, passierte dann noch die Schießbaumwolle, strich keimfrei über die Hefe in der Glocke und wurde durch die Pumpe fortwährend hindurchgesogen; das zweite Rohr mit Schießbaumwolle sowie eine zweite Schwefelsäurewaschflasche verhinderten den Zutritt von Feuchtigkeit und Bakterienkeimen zur Glocke von der andern Seite. Diese Prozedur wurde fünf Tage hindurch fortgesetzt; der Hefeteig war zu einer spröden, gelblichweißen Masse geworden, die sich mit Leichtigkeit pulvern ließ. Hefe, welche in dieser Weise behandelt wurde, verlor beinahe das gesamte ihr mechanisch anhaftende Wasser, wenn man sie nachher einige Tage im Exsikkator über Schwefelsäure stehen ließ. Die vorgenommenen Trockenbestimmungen ergaben folgende Werte:

Frische Hefe: 28·2185 g ergaben nach vierstündigem Evakuieren an der Luftpumpe, hierauf Trocknen bei 100° durch 1<sup>h</sup>, dann 24<sup>h</sup> bei 120° bis zur Gewichtskonstanz eine Menge von 6·635 g Hefe, sie hatte also  $21·5835 \text{ g H}_2\text{O} = 76·48\% \text{ H}_2\text{O}$  besessen.

Lufttrockene Hefe, nach dem oben beschriebenen Verfahren hergestellt, enthält noch 13·78%  $\text{H}_2\text{O}$ . Durch mehrtägiges Stehen über Schwefelsäure bis zur Gewichtskonstanz verliert sie noch zirka 10%  $\text{H}_2\text{O}$ , so daß sie hernach unter sehr geringer Gewichtsabnahme bei 120° erhitzt werden kann.

<sup>1</sup> Ber. d. D. chem. Ges., Bd. 30, 1112.

Das Erhitzen wurde zwischen bei  $150^{\circ}$  sterilisiertem Filtrierpapier im regulierten Trockenschrank vorgenommen, in welchem die zerriebene Hefe in sehr dünner Schichte aufgebracht lag. Aus dem Trockenschrank wurde sie in einer gewogenen sterilisierten Petrischale zur Wage gebracht und von da auf sterilisiertem Glanzpapier möglichst rasch in das bis dahin im Trockenschrank sterilisierte Körbchen gefüllt, das hierauf augenblicklich in den Kolben getan wurde, der im Thermostaten mit Wasserdampf bei  $100^{\circ}$  sterilisiert worden war. Dann wurden die Operationen des Auspumpens und Füllens mit Sauerstoff vorgenommen und schließlich das Ganze bei möglichst konstanter Temperatur sich selbst durch 48<sup>h</sup> überlassen, nachdem aus dem Meßgefäß der Pipette eine derartige Menge einer 10prozentigen Traubenzuckerlösung in das Körbchen gebracht worden war, daß hiedurch das Frischgewicht der Hefe um 5% überschritten wurde. Da der Kolben mit Gas vollständig gefüllt war, mußte die Flüssigkeit hineingepreßt werden. Das geschah in der Weise, daß die Meßpipette mit der Zuckerlösung beschickt wurde, so daß sie bis oben gefüllt war. Dann wurde an den oberen Pipettenhahn der Vakuumschlauch der Druckpumpe angesetzt, der untere Hahn geöffnet und nun die gewünschte Menge hineingepreßt, jedoch stets nur wenige Kubikzentimeter, so daß der Druck der Flüssigkeitsschichte stets den Gasdruck überwog und kein Gas entweichen konnte. War dann noch nicht die entsprechende Menge Flüssigkeit hineingelangt, so wurde wieder bis zum Rande gefüllt und in der beschriebenen Weise weiter vorgegangen. Die Zuckerlösung war aus reiner Dextrose hergestellt und im Kolben steril bis zur Verwendung aufbewahrt; nach Füllung der Meßpipette blieb der obere Hahn derselben bis zum Anschalten des Druckschlauches geschlossen. Im Rohre der Pipette blieb dabei eine Flüssigkeitssäule stehen, die beim Hinzufügen der Flüssigkeitsmenge in Betracht gezogen wurde.

Rauminhalt des Kolbens:

I.

Gefunden  $0.3064 \text{ g O}_2$  bei  $25^{\circ}$  und  $744 \text{ mm}$ .

## II.

Gefunden  $0.3021 \text{ g O}_2$   $25^\circ$  und  $734 \text{ mm}$ .  
entsprechend  $\text{cm}^3 \text{ O}_2$  I.  $280.75$  II.  $280.71$

I. Hefe lufttrocken . . .  $8.16 \text{ g}$  erhielten  $15 \text{ cm}^3$  einer 10prozentigen Zuckerlösung, die also  $1.5 \text{ g}$  Dextrose enthielt. Nach  $48^{\text{h}}$  wurde die Absorption vorgenommen, welche folgende Werte ergab:

$\text{CO}_2$ -Abgabe . . . . .  $0.9035 \text{ g}$   $\text{O}_2$ -Aufnahme . . . . .  $0.1996 \text{ g}$   
Alkohol gebildet . . .  $0.6665 \text{ g}$  Zucker gefunden . . .  $0.0000 \text{ g}$ ,

daher

Zucker zerlegt . . .  $1.5000 \text{ g} = 100\%$  des Gesamtzuckers.

War die Gärung<sup>1</sup> nach der Gleichung  $\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6 = 2 \text{ C}_2\text{H}_5\text{OH} + 2 \text{ CO}_2$  vor sich gegangen, so war der gebildete Alkohol aus  $1.3040 \text{ g}$  Zucker, also  $87.78\%$  des zersetzten Zuckers entstanden. Die durch Gärung gebildete  $\text{CO}_2$  wäre  $0.6375 \text{ g}$ . Daher der Rest der gefundenen  $\text{CO}_2$   $0.2660 \text{ g}$  auf Rechnung der Atmung zu setzen. Diese Menge entspräche wieder nach der Gleichung  $\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6 + 6 \text{ O}_2 = 6 \text{ CO}_2 + 6 \text{ H}_2\text{O}$  einer veratmeten Zuckermenge von  $0.1814 \text{ g} = 12.22\%$  des zerlegten Zuckers. Zur Oxydation dieser Zuckermenge wäre eine Quantität von  $0.1935 \text{ g}$  Sauerstoff nötig gewesen, während die gefundene Sauerstoffmenge, ebenso wie auch die gefundene Zuckerquantität gegen die Theorie etwas zu hoch ist, letzteres offenbar wegen Bildung von kleinen Mengen der bekannten Gärungsnebenprodukte, die nicht weiter bestimmt wurden. Diese Erscheinung läuft übrigens durch die ganze Versuchsreihe.

Kontrollversuch: Hefe lufttrocken  $7.58 \text{ g}$  erhielten  $14 \text{ cm}^3$  einer 10prozentigen Zuckerlösung, die also  $1.4 \text{ g}$  Traubenzucker enthielt. Absorption nach  $48^{\text{h}}$ .

Zucker gefunden . . . . .  $0.0000 \text{ g}$ , daher  
Zucker zerlegt . . . . .  $1.4000 \text{ g} = 100\%$   
 $\text{CO}_2$  gefunden . . . . .  $0.7847 \text{ g}$

<sup>1</sup> Giltay und Aberson, Pringsh. Jahrb. für w. Bot. XXVI. (1894) 543.

Durch Gärung		Durch Atmung
$1 \cdot 2772 \text{ g} = 92 \cdot 12\%$	Zucker zerlegt	$0 \cdot 1093 \text{ g} = 7 \cdot 88\%$
$0 \cdot 6244 \text{ g}$	$\text{CO}_2$ gebildet	$0 \cdot 1603 \text{ g}$
$0 \cdot 6528 \text{ g}$	Alkohol gebildet	
$\text{O}_2$ aufgenommen . . . . . $0 \cdot 1281 \text{ g}$ (ber. $0 \cdot 1166 \text{ g}$ )		

Der Alkohol wurde in der Weise bestimmt, daß der Inhalt des Körbchens, respektive des Kolbens, da bei der Gärung ein Teil der Substanz über den Rand des Körbchens in den Kolben gelangt war, mit einer bestimmten Menge Wassers in einen Fraktionskolben gespritzt und unter Verwendung einer Kahlbaumkolonne zweimal destilliert wurde.<sup>1</sup> Das spezifische Gewicht des Destillats ergab sodann nach den Hefner'schen Tabellen die enthaltene Alkoholmenge, der restliche Inhalt des Kolbens wurde abfiltriert, mit Wasser gut nachgewaschen und nach der Hager'schen Methode im Filtrat der übrige Zucker bestimmt. Als Reagens diente eine Flüssigkeit, die durch Zerreiben von  $30 \text{ g HgO} + 30 \text{ g CH}_3\text{COONa}$  und Übergießen mit  $25 \text{ g}$  konzentrierter Essigsäure, Hinzufügen von  $50 \text{ g NaCl}$  und Verdünnen mit warmem Wasser auf  $1 \text{ l}$  hergestellt war. Mit  $200 \text{ cm}^3$  dieses Reagens wurde das Filtrat über freiem Feuer zirka  $4^{\text{h}}$  erwärmt, indem der betreffende Kolben mit einem Steigrohr versehen ward. Dabei scheidet sich  $\text{HgCl}_2$  aus, welches auf getrocknetem, gewogenen Filter gesammelt, mit 5prozentiger  $\text{HCl}$ , dann mit Wasser, schließlich mit 80prozentigem Alkohol gewaschen, auf dem Wasserbade getrocknet und gewogen wird. Nach Hager entsprechen dann  $1 \text{ g}$  Dextrose  $5 \cdot 886 \text{ g}$   $\text{HgCl}_2$ .

II. Lufttrockene Hefe  $8 \cdot 59 \text{ g}$  wurden langsam durch  $4^{\text{h}}$  auf  $50^\circ$  erwärmt und  $1^{\text{h}}$  bei dieser Temperatur belassen. Gewichtsabnahme  $0 \cdot 51 \text{ g} = 5 \cdot 94\%$ . Diese  $8 \cdot 08 \text{ g}$  Hefe wurden mit  $19 \text{ cm}^3$  Dextroselösung versetzt, welche also  $1 \cdot 9 \text{ g}$  Zucker enthielt. Absorption nach  $48^{\text{h}}$ .

<sup>1</sup> Fresenius, Quant. Analyse II, 617.



Zucker gefunden .....  $0\cdot1638\text{ g}$ , daher  
 Zucker zerlegt .....  $1\cdot7362\text{ g} = 91\cdot37\%$   
 $\text{CO}_2$  gefunden .....  $1\cdot0242\text{ g}$

Durch Gärung		Durch Atmung	
$1\cdot5461\text{ g} = 89\cdot42\%$	Zucker zerlegt	$0\cdot1829\text{ g} = 10\cdot58\%$	
$0\cdot7559\text{ g}$	gebildete $\text{CO}_2$	$0\cdot2683\text{ g}$	
$0\cdot7902\text{ g}$	gebildeter Alkohol		

$\text{O}_2$  aufgenommen .....  $0\cdot2092\text{ g}$  (ber.  $0\cdot1951\text{ g}$ ).

Kontrollversuch:  $8\cdot04\text{ g}$  wurden ebenso behandelt wie zuvor. Gewichtsabnahme  $0\cdot4269\text{ g} = 5\cdot31\%$ . Diese  $7\cdot61\text{ g}$  Hefe wurden mit  $18\text{ cm}^3$  Dextroselösung versetzt, welche also  $1\cdot8\text{ g}$  Zucker enthielt. Absorption nach  $48^{\text{h}}$ .

Zucker gefunden .....  $0\cdot1620\text{ g}$ , daher  
 Zucker zerlegt .....  $1\cdot6380\text{ g} = 91\cdot00\%$   
 $\text{CO}_2$  gefunden .....  $0\cdot9686\text{ g}$

Durch Gärung		Durch Atmung	
$1\cdot4527\text{ g} = 89\cdot18\%$	zerlegter Zucker	$0\cdot1762\text{ g} = 10\cdot82\%$	
$0\cdot7102\text{ g}$	gebildete $\text{CO}_2$	$0\cdot2584\text{ g}$	
$0\cdot7425\text{ g}$	gebildeter Alkohol		

$\text{O}_2$  aufgenommen .....  $0\cdot1909\text{ g}$  (ber.  $0\cdot1879\text{ g}$ ).

III. Lufttrockene Hefe:  $9\cdot57\text{ g}$  wurden wie früher, jedoch auf  $70^\circ$  erhitzt. Gewichtsabnahme:  $0\cdot715\text{ g} = 7\cdot47\%$ . Diesen  $8\cdot86\text{ g}$  Hefe wurden  $22\text{ cm}^3$  10prozentiger Dextroselösung hinzugefügt, so daß ihr also  $2\cdot2\text{ g}$  Zucker geboten waren. Absorption nach  $48^{\text{h}}$ .

Zucker gefunden .....  $0\cdot8218\text{ g}$ , daher  
 Zucker zerlegt .....  $1\cdot3782\text{ g} = 62\cdot65\%$   
 $\text{CO}_2$  gefunden .....  $0\cdot8120\text{ g}$

Durch Gärung		Durch Atmung	
$1\cdot2222\text{ g} = 89\cdot31\%$	Zucker zerlegt	$0\cdot1463\text{ g} = 10\cdot69\%$	
$0\cdot5975\text{ g}$	$\text{CO}_2$ gebildet	$0\cdot2145\text{ g}$	
$0\cdot6247\text{ g}$	Alkohol gebildet		
$\text{O}_2$ aufgenommen ..... $0\cdot1627\text{ g}$ (ber. $0\cdot1561\text{ g}$ ).			

Kontrollversuch:  $9\cdot08\text{ g}$  Hefe wurden wie früher behandelt. Gewichtsabnahme  $0\cdot565\text{ g} = 6\cdot22\%$ . Diesen  $8\cdot52\text{ g}$  Hefe wurden  $21\text{ cm}^3$  10prozentiger Dextroselösung mit  $2\cdot1\text{ g}$  Zucker geboten. Absorption nach  $48^{\text{h}}$ .

Zucker gefunden .....  $0\cdot8368\text{ g}$ , daher  
 Zucker zerlegt .....  $1\cdot2632\text{ g} = 60\cdot15\%$   
 $\text{CO}_2$  gefunden .....  $0\cdot7350\text{ g}$

Durch Gärung		Durch Atmung	
$1\cdot1049\text{ g} = 89\cdot27\%$	Zucker zerlegt	$0\cdot1328\text{ g} = 10\cdot73\%$	
$0\cdot5402\text{ g}$	$\text{CO}_2$ gebildet	$0\cdot1948\text{ g}$	
$0\cdot5647\text{ g}$	Alkohol gebildet		
$\text{O}_2$ aufgenommen ..... $0\cdot1499\text{ g}$ (ber. $0\cdot1416\text{ g}$ ).			

IV. Luftrockene Hefe wurde wie früher:  $10\cdot11\text{ g}$  auf  $90^\circ$  erhitzt. Gewichtsabnahme  $1\cdot01\text{ g} = 10\%$ . Diesen  $9\cdot10\text{ g}$  Hefe wurden  $35\text{ cm}^3$  10prozentiger Dextroselösung mit  $3\cdot5\text{ g}$  Zucker zugesetzt. Absorption nach  $48^{\text{h}}$ .

Zucker gefunden .....  $2\cdot4915\text{ g}$ , daher  
 Zucker zerlegt .....  $1\cdot0085\text{ g} = 28\cdot81\%$   
 $\text{CO}_2$  gefunden .....  $0\cdot5980\text{ g}$

Durch Gärung		Durch Atmung	
$0\cdot9011\text{ g} = 89\cdot35\%$	Zucker zerlegt	$0\cdot1074\text{ g} = 10\cdot65\%$	
$0\cdot4405\text{ g}$	$\text{CO}_2$ gebildet	$0\cdot1575\text{ g}$	
$0\cdot4606\text{ g}$	Alkohol gebildet		
$\text{O}_2$ aufgenommen ..... $0\cdot1304\text{ g}$ (ber. $0\cdot1146\text{ g}$ ).			

Kontrollversuch:  $9\cdot96\text{ g}$  Hefe wurden wie früher behandelt. Gewichtsabnahme  $0\cdot98\text{ g} = 9\cdot8\%$ . Diesen  $8\cdot98\text{ g}$  Hefe wurden  $35\text{ cm}^3$  10prozentiger Dextroselösung mit  $3\cdot5\text{ g}$  Zucker zugesetzt. Absorption nach  $48^{\text{h}}$ .

Zucker gefunden..... 2·4715 g, daher  
 Zucker zerlegt..... 1·0285 g = 29·39‰.  
 CO<sub>2</sub> gefunden ..... 0·5986 g

Durch Gärung		Durch Atmung	
0·9131 g = 87·79‰	zerlegter Zucker	0·1038 g = 10·21‰	
0·4464 g	gebildete CO <sub>2</sub>	0·1522 g	
0·4667 g	gebildeter Alkohol		
O <sub>2</sub> aufgenommen..... 0·1341 g (ber. 0·1107 g).			

V. Lufttrockene Hefe: 10·00 g wurden auf 110° erhitzt.  
 Gewichtsabnahme 1·111 g = 11·11‰. Diesen 8·89 g Hefe  
 wurden 35 cm<sup>3</sup> 10prozentiger Dextroselösung mit 3·5 g Zucker  
 zugesetzt. Absorption nach 48<sup>h</sup>.

Zucker gefunden..... 2·3400 g, daher  
 Zucker zerlegt..... 1·01965 g = 29·13‰.  
 CO<sub>2</sub> gefunden ..... 0·6039 g

Durch Gärung		Durch Atmung	
0·9047 g = 89·14‰	Zucker zerlegt	0·1102 g = 10·86‰	
0·4423 g	CO <sub>2</sub> gebildet	0·1616 g	
0·4624 g	Alkohol gebildet		
O <sub>2</sub> aufgenommen..... 0·1201 g (ber. 0·1176 g).			

Kontrollversuch: 10·56 g Hefe wurden wie zuvor  
 behandelt. Gewichtsabnahme 1·16 g = 11‰. Diese 9·398 g Hefe  
 wurden mit 36 cm<sup>3</sup> 10prozentiger Dextroselösung mit 3·6 g  
 Zucker versetzt. Absorption nach 48<sup>h</sup>.

Zucker gefunden..... 2·5718 g, daher  
 Zucker zerlegt..... 1·0282 g = 28·56‰.  
 CO<sub>2</sub> gefunden ..... 0·5912 g

Durch Gärung		Durch Atmung	
0·9192 g = 90·48‰	Zucker zerlegt	0·0967 g = 9·52‰	
0·4494 g	CO <sub>2</sub> gebildet	0·1418 g	
0·4698 g	Alkohol gebildet		
O <sub>2</sub> aufgenommen..... 0·1145 g (ber. 0·1032 g).			

VI. Lufttrockene Hefe: 10·85 g wurden auf 130° erhitzt.  
 Gewichtsabnahme 1·4333 g = 13·21‰. Diese 9·417 g Hefe

wurden mit  $42\text{ cm}^3$  Dextroselösung mit  $4.2\text{ g}$  Zucker versetzt.  
Absorption nach  $48^{\text{h}}$ .

Zucker gefunden.....  $3.8569\text{ g}$ , daher  
Zucker zerlegt.....  $0.3431\text{ g} = 8.17\%$ .  
 $\text{CO}_2$  gefunden .....  $0.3825\text{ g}$

Durch Gärung		Durch Atmung
$0.1229\text{ g} = 35.86\%$	Zucker zerlegt	$0.2198\text{ g} = 64.14\%$
$0.0601\text{ g}$	$\text{CO}_2$ gebildet	$0.3224\text{ g}$
$0.0628\text{ g}$	Alkohol gebildet	
$\text{O}_2$ aufgenommen.....	$0.2396\text{ g}$ (ber. $0.2345\text{ g}$ ).	

Kontrollversuch:  $9.98\text{ g}$  lufttrockener Hefe wurden wie zuvor behandelt. Gewichtsabnahme  $1.3473\text{ g} = 13.5\%$ . Diese  $8.6327\text{ g}$  Hefe wurden mit  $41\text{ cm}^3$  Dextroselösung mit  $4.1\text{ g}$  Zucker versetzt. Absorption nach  $48^{\text{h}}$ .

Zucker gefunden.....  $3.7306\text{ g}$ , daher  
Zucker zersetzt.....  $0.3694\text{ g} = 9.01\%$ .  
 $\text{CO}_2$  gefunden .....  $0.4063\text{ g}$

Durch Gärung		Durch Atmung
$0.1261\text{ g} = 34.92\%$	Zucker zerlegt	$0.2350\text{ g} = 65.08\%$
$0.0616\text{ g}$	$\text{CO}_2$ gebildet	$0.3447\text{ g}$
$0.0644\text{ g}$	Alkohol gebildet	
$\text{O}_2$ aufgenommen.....	$0.2511\text{ g}$ (ber. $0.2507\text{ g}$ ).	

VII. Hefe lufttrocken:  $11.70\text{ g}$  wurden auf  $150^\circ$  erhitzt. Gewichtsabnahme  $1.6088\text{ g} = 13.75\%$ . Diese  $10.0912\text{ g}$  Hefe wurden mit  $44\text{ cm}^3$  einer 10prozentigen Dextroselösung mit  $4.4\text{ g}$  Zucker versetzt. Absorption nach  $48^{\text{h}}$ .

Zucker gefunden.....  $4.3025\text{ g}$ , daher  
Zucker zersetzt.....  $0.0975\text{ g} = 2.22\%$ .  
 $\text{CO}_2$  gefunden.....  $0.0999\text{ g}$

Durch Atmung		Durch Gärung
nicht bestimmbar	Alkohol quantitativ nicht nachweisbar	nicht bestimmbar

$\text{O}_2$  aufgenommen .....  $0.1916\text{ g}$ .

Bei diesem Versuch wurde der Alkohol qualitativ mit der äußerst empfindlichen Lieben'schen Jodoformprobe nachgewiesen. Fällung nach etwa einer halben Stunde. Ein quantitativer Nachweis ließ sich wegen der geringen Menge gebildeten Alkohols nicht mehr erbringen, daher ist wohl fast die ganze Menge der gefundenen  $\text{CO}_2$ , welche allerdings im Vergleich zu der zerlegten Zuckerquantität zu gering erscheint, auf Rechnung der nicht physiologischen Oxydation zu setzen.

Kontrollversuch:  $10.53\text{g}$  lufttrockener Hefe wie zuvor behandelt. Gewichtsabnahme  $1.451\text{g} = 13.78\%$ . Diese  $9.079\text{g}$  Hefe wurden mit  $40\text{cm}^3$  Dextroselösung mit  $4.00\text{g}$  Zucker beschickt. Absorption nach  $48^{\text{h}}$ .

Zucker gefunden . . . . .  $3.9000\text{g}$ , daher  
 Zucker zersetzt . . . . .  $0.1000\text{g} = 2.5\%$   
 $\text{CO}_2$  gefunden . . . . .  $0.0992\text{g}$   
 Sauerstoff . . . . .  $0.1341\text{g}$   
 Alkohol . . . . . Jodoformkrystalle nach  $2^{\text{h}}$ .

VIII. Hefe lufttrocken:  $10.36\text{g}$  auf  $170^\circ$  erhitzt. Gewichtsabnahme  $1.4276\text{g} = 13.78\%$ . Diese  $8.9324\text{g}$  Hefe wurden mit  $40\text{cm}^3$  Dextroselösung mit  $4.00\text{g}$  Zucker beschickt. Absorption nach  $48^{\text{h}}$ .

Zucker gefunden . . .  $3.9079\text{g}$ , daher  
 Zucker zersetzt . . .  $0.0921\text{g} = 2.30\%$   
 $\text{CO}_2$  gefunden . . . . .  $0.0442\text{g}$   
 Sauerstoff . . . . .  $0.1419\text{g}$   
 Alkohol . . . . . Jodoformkrystalle nach einigen Stunden.

Kontrollversuch:  $10.95\text{g}$  lufttrockene Hefe wie zuvor behandelt. Gewichtsabnahme  $1.5089\text{g} = 13.78\%$ . Diese  $9.4411\text{g}$  Hefe mit  $40\text{cm}^3$  Dextroselösung versetzt. Absorption nach  $48^{\text{h}}$ .

Zucker gefunden . . .  $3.8984\text{g}$ , daher  
 Zucker zersetzt . . . .  $0.1016\text{g} = 2.54\%$   
 $\text{CO}_2$  gefunden . . . . .  $0.0695\text{g}$   
 Sauerstoff . . . . .  $0.1500\text{g}$   
 Alkohol . . . . . spärliche Jodoformkrystalle.



IX. Hefe lufttrocken:  $11.32\text{ g}$  Hefe auf  $190^\circ$  gebracht. Gewichtsabnahme  $1.6006\text{ g} = 14.14\%$ . Diese  $9.7194\text{ g}$  Hefe wurden mit  $44\text{ cm}^3$  10prozentiger Dextroselösung versetzt. Absorption nach  $48^{\text{h}}$ .

Zucker gefunden . . . . .  $4.3792\text{ g}$ , daher  
 Zucker zersetzt . . . . .  $0.0208\text{ g} = 0.48\%$   
 $\text{CO}_2$  gefunden . . . . .  $0.0093\text{ g}$   
 Sauerstoff . . . . .  $0.0403\text{ g}$   
 Alkohol . . . . . Jodoformkrystalle nach  $24^{\text{h}}$ .

Kontrollversuch:  $12.02\text{ g}$  lufttrockene Hefe auf  $195^\circ$  gebracht. Gewichtsabnahme  $1.7044\text{ g} = 14.18\%$ . Diese  $10.3156\text{ g}$  mit  $44\text{ cm}^3$  Dextroselösung versetzt. Absorption nach  $48^{\text{h}}$ .

Zucker gefunden . . . . .  $4.3808\text{ g}$ , daher  
 Zucker zerlegt . . . . .  $0.0192\text{ g} = 0.44\%$   
 $\text{CO}_2$  gefunden . . . . .  $0.0091\text{ g}$   
 Sauerstoff . . . . .  $0.0460\text{ g}$   
 Alkohol . . . . . einzelne Jodoformkrystalle nach  $24^{\text{h}}$ .

X. Hefe lufttrocken:  $12.14\text{ g}$  auf  $200^\circ$  erhitzt. Gewichtsverlust  $1.8723\text{ g} = 15.41\%$ . Diese  $10.2677\text{ g}$  Hefe mit  $45\text{ cm}^3$  Dextroselösung versetzt. Absorption nach  $48^{\text{h}}$ .

Zucker gefunden . . . . .  $4.4852\text{ g}$ , daher  
 Zucker zerlegt . . . . .  $0.0148\text{ g} = 0.34\%$   
 $\text{CO}_2$  gefunden . . . . .  $0.0066\text{ g}$   
 Sauerstoff . . . . .  $0.0412\text{ g}$   
 Alkohol . . . . . nicht mehr nachzuweisen.

Kontrollversuch:  $11.74\text{ g}$  wie zuvor behandelt. Gewichtsverlust  $1.7469\text{ g} = 14.88\%$ . Diese  $9.9931\text{ g}$  mit  $44\text{ cm}^3$  Dextroselösung versetzt. Absorption nach  $48^{\text{h}}$ .

Zucker gefunden . . . . .  $4.3828\text{ g}$ , daher  
 Zucker zerlegt . . . . .  $0.0172\text{ g} = 0.39\%$   
 $\text{CO}_2$  gefunden . . . . .  $0.0074\text{ g}$   
 Sauerstoff . . . . .  $0.0429\text{ g}$   
 Alkohol . . . . . nicht mehr nachzuweisen.

Ein Versuch, mit Hefe angestellt, welche auf  $205^{\circ}$  gebracht worden war, ergab wohl noch eine geringe  $\text{CO}_2$ -Ausscheidung, doch lagen die Zahlen schon innerhalb der Fehlergrenzen, so daß sie nicht unzweifelhaft als Versuchsergebnisse gelten konnten. Dasselbe gilt von der Menge des aufgenommenen Sauerstoffs, wiewohl hier die betreffende Quantität noch mehrere Milligramme betrug. Denn als der Versuch mit Hefe nach einer Erhitzung auf  $210^{\circ}$  wiederholt wurde, ergab sich keine Spur einer  $\text{CO}_2$ -Ausscheidung mehr, wohl aber eine geringe  $\text{O}_2$ -Aufnahme.

Das Erlöschen einer  $\text{CO}_2$ -Abgabe liegt jedenfalls zwischen  $200^{\circ}$  —  $205^{\circ}$ , während die Zymase schon bei  $130^{\circ}$  größtenteils zerstört erscheint. Im Nachfolgenden sind die gefundenen Werte in einer Tabelle zusammengestellt, wobei jede Ziffer das Mittel aus zwei parallel laufenden Versuchen darstellt. Da stets dieselben Konzentrationen der Zuckerlösung und annähernd dieselben Hefemengen angewendet wurden, sind die erhaltenen Prozentzahlen direkt vergleichbar. (Siehe nebenstehende Tabelle.)

Aus diesen Zahlen ergibt sich der Verlauf der Gärung und Atmung, respektive Verbrennung der verwendeten Hefe nach Erhitzung derselben bis  $205^{\circ}$  in regelmäßiger Progression. Die Gärung geht — das ist aus den Ziffern des vergorenen Zuckers ersichtlich — bis  $110^{\circ}$  fast gleichmäßig vor sich, wobei aber die Prozentzahl des verarbeiteten Zuckers bis auf  $28.84$  sinkt. Die Atmung wird bei  $50^{\circ}$  eine gesteigerte und sinkt von da ab bis  $110^{\circ}$ .

Bei  $130^{\circ}$  ändern sich die Verhältnisse plötzlich. Die Ziffer des verarbeiteten Zuckers sinkt von  $28.84\%$  auf  $8.59\%$ . Doch von dem zerlegten Zucker fallen nur  $35.35\%$  (gegen  $89.81\%$  von früher) der Wirkung der Zymase zur Last, während die restlichen  $64.66\%$  auf Rechnung der Verbrennung kommen. Offenbar tritt die Oxydation in den Vordergrund, wenn die Wirkung der Zymase bedeutend geschwächt ist. Von da ab ist die Gärungsarbeit ein Minimum, so daß der gebildete Alkohol nur qualitativ nachgewiesen werden kann und die entwickelte  $\text{CO}_2$  der Oxydation zugeschrieben werden muß. Von einem Leben des Organismus nach einer derartig hohen Erhitzung kann wohl keine Rede mehr sein; die exhalierete  $\text{CO}_2$  beweist

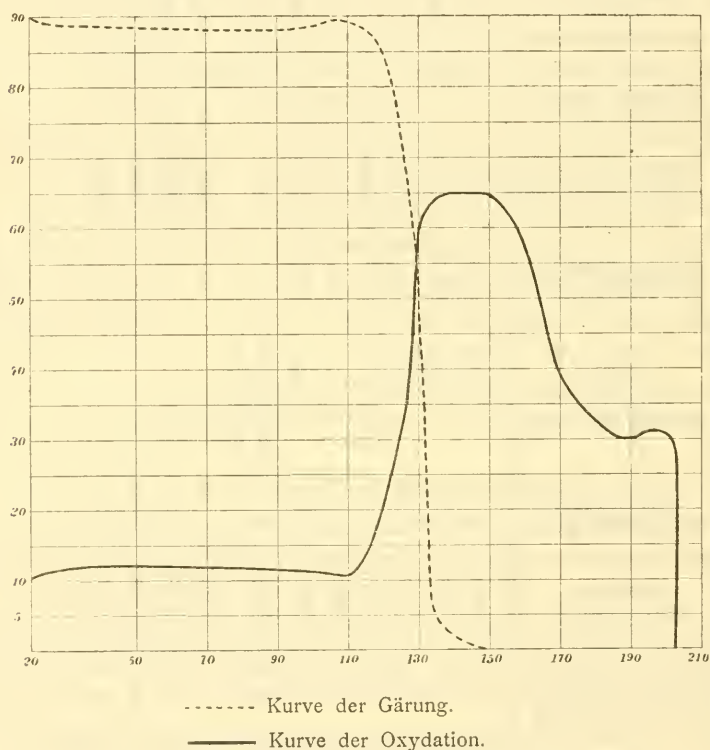
Temperatur, lufttrocken zirka	Hefe in Gramm	Zucker geboten in Gramm der 10pro- zentigen Lösung	Zucker zerlegt in Gramm	In Prozenten des Gesamtzuckers	Der in der Gärung zerlegte Zucker in Gramm	In Prozenten des zerlegten Zuckers	Gesamtmenge der ausgeschiedenen CO <sub>2</sub> in Gramm	In der Gärung ausgeschiedene CO <sub>2</sub> in Gramm	In der Verbrennung ausgeschiedene CO <sub>2</sub> in Gramm	Gebildeter Alkohol in Gramm	Aufgenommener Sauerstoff in Gramm		
20°	7·87	1·45	1·4500	100·00	1·2906	89·95	0·1454	10·05	0·8441	0·6309	0·2132	0·6579	0·1689
50°	7·85	1·85	1·6871	91·19	1·4994	89·30	0·1796	10·70	0·9964	0·7331	0·2634	0·7664	0·2000
70°	8·69	2·15	1·3207	61·40	1·1636	89·29	0·1395	10·70	0·7735	0·5689	0·2046	0·5947	0·1563
90°	9·04	3·50	1·0185	29·10	0·9071	89·57	0·1056	10·43	0·5983	0·4435	0·1548	0·4636	0·1323
110°	9·14	3·55	1·0239	28·84	0·9119	89·81	0·1035	10·19	0·5975	0·4458	0·1517	0·4661	0·1173
130°	9·02	4·15	0·3562	8·59	0·1245	35·35	0·2274	64·66	0·3944	0·0608	0·3336	0·0636	0·2453
150°	9·59	4·20	0·0988	2·36	quantit. nicht bestimmbar	—	0·0679	67·40	0·0995	Spuren	0·0995	qualitat. nachgew.	0·1628
170°	9·19	4·00	0·0968	2·42	ditto.	—	0·0388	40·08	0·0568	ditto.	0·0568	ditto.	0·1459
190°	10·02	4·40	0·0208	0·48	ditto.	—	0·0063	31·50	0·0093	ditto.	0·0093	ditto.	0·0406
195°	10·32	4·40	0·0192	0·44	ditto.	—	0·0062	32·29	0·0091	ditto.	0·0091	ditto.	0·0460
200°	10·13	4·45	0·0160	0·36	—	—	0·0050	31·25	0·0070	keine	0·0070	—	0·0421
205°	9·78	4·45	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	0·0373

nach 48h

nach 48<sup>h</sup>

aber, daß noch immer Oxydationsprozesse vor sich gehen; diese sind es, welche Wiesner mit dem Worte »tote Oxydation« bezeichnet.

Die tote Oxydation, welche also für die verwendete Hefe bei  $130^{\circ}$  beginnt, zeigt jedoch bei  $190^{\circ}$ , bis zu welchem Punkte sie stetig abnimmt, eine jähe Verminderung, um endlich zwischen  $200^{\circ}$  bis  $205^{\circ}$  gänzlich zum Stillstande zu gelangen. Die geschilderten Erscheinungen kommen an den untenstehenden Kurvenskizzen für Gärung und Oxydation zur Darstellung. Die Wirkung der Zymase ist von  $195^{\circ}$  ab auch qualitativ nicht mehr nachzuweisen.



Den Verlauf der Prozesse, welche sich in einer progressiv erhitzten Hefe abspielen, wenn man sie hernach in eine Zuckerlösung bringt, vergegenwärtigt man sich am besten, wenn man in der obenstehenden Tabelle die Ziffern der abgegebenen

Gesamtkohlensäure betrachtet. Die Zahlen nehmen stetig bis  $130^{\circ}$  ab, wo die Wirkung der Zymase fast erloschen ist. Aber auch die Ziffer der Verbrennungskohlensäure sinkt hier plötzlich, da von hier ab nur mehr die tote Oxydation wirksam ist und erleidet bei  $190^{\circ}$  ein nochmaliges rapides Fallen. Das führt zu der Vermutung, daß auch in der toten Oxydation noch zwei Prozesse enthalten sind. Wiesner<sup>1</sup> hat darauf aufmerksam gemacht, daß die Oxydation der zur Veratmung in der lebenden Pflanze gelangenden Körper kein einfacher Vorgang ist, sondern daß noch andere Prozesse in den Atmungsvorgang verflochten sind. Entweder es werden durch den Chemismus des lebenden Protoplasmas fortwährend Substanzen erzeugt, welche den Sauerstoff begierig an sich ziehen<sup>2</sup> oder es werden die zu veratmenden Substanzen durch Fermente in einen Zustand versetzt, in welchem sie leichter oxydierbar sind. Solche Oxydationsfermente sind bekanntlich die Oxydasen,<sup>3</sup> welche in zahlreichen Pflanzensäften aufgefunden wurden, welche sie braun färben, so bei *Vicia faba* und Kartoffel. Auch in der Hefe kommt eine Oxydase vor, deren Wirkung schon Buchner<sup>4</sup> in der Verfärbung des Hefepreßsaftes erkannte. L. Telesnin<sup>5</sup> stellte mit Zymín auf verschiedenen Substraten Versuche an und konstatierte auch bei diesem, also der toten Dauerhefe, eine konstante Sauerstoffaufnahme, welche der Wirksamkeit der Bertrand'schen Oxydase zugeschrieben werden muß. Ähnliche Verhältnisse beobachtete J. Warschawsky,<sup>6</sup> der mit

<sup>1</sup> Wiesner, Anatomie und Physiologie der Pflanzen, Wien 1898, p. 247.

<sup>2</sup> Loew u. Bokorny, Ber. d. D. chem. Ges. 14, 2508, 2589, 15, 383, 695, 2753. Reinke, ebendas. 14, 2150, 15, 107. Baumann, 16, 248.

<sup>3</sup> Bertrand, Compt. rend. 1895, Bd. 120, p. 266; 1896, Bd. 122, p. 1215; 1897, Bd. 124, p. 1032 (Lakkase); Grüß, Landw. Jahrb., 1896, Bd. 25, p. 388 (Kartoffel). Vines: Annales of botany 15, 181; Raciborski, Ber. d. bot. Ges. 16, 52 u. 119, Flora 85, 362; Molisch, Studie über Milchsäure etc., p. 63; Hunger, Ber. d. bot. Ges. 19, 374 (1901); Behrens, Centralbl. Bakter. II, 7, 1 (1901).

<sup>4</sup> Buchner-Hahn, Die Zymasegärung, 1903; J. Grüß, Wochenschr. f. Brauerei, 18, Nr. 24—26 (1901); J. Grüß, Wochenschr. f. Brauerei, I, II, III p. 310, 318, 335. (Über Oxydationserscheinungen in der Hefe.)

<sup>5</sup> Zentralbl. Bakt., XII, 212 ff. (1904).

<sup>6</sup> Ebendas., XII, 400 (1904).



Saccharom. Membranaefaciens arbeitete, welcher bekanntlich keine Zymase enthält und keine Gärkraft besitzt. Die Oxydase nimmt entweder den freien Sauerstoff der Luft auf und überträgt ihn auf oxydable Substanzen (direkte Oxydase)<sup>1</sup> oder sie zerlegt Peroxyde ( $H_2O_2$ ), deren Sauerstoff dann übertragen wird (indirekte Oxydase). Nach der Annahme von O. Loew<sup>2</sup> soll die Zerlegung von  $H_2O_2$  einem spezifischen, sehr verbreiteten Enzym zukommen, der sogenannten Katalase. Über Hefenkatalase berichtet W. Issajew.<sup>3</sup> Das Vorkommen einer derartigen Peroxydase<sup>4</sup> im tierischen und pflanzlichen Organismus, welche Peroxyd und bei der Luftoxydation von organischer Materie entstandene Peroxyde in ähnlicher Weise, wie dies Ferrosalze tun, aktiviert, wurde schon von Schönbein<sup>5</sup> festgestellt. Nach Bach und Chodat<sup>6</sup> beträgt die für die Oxydase tödliche Temperatur  $70^\circ$ , bei welcher die Peroxydase noch weiterbesteht. Durch Kochen der wässerigen Lösung wird allerdings auch die letztere zerstört, doch beobachtete Woods,<sup>7</sup> daß dann dieselbe nach einigen Stunden regeneriert werde und schließt daraus, daß es für Oxydase und Peroxydase Zymogene gibt, welche gegen Hitze weit beständiger sind als die aktiven Fermente. Daß Enzyme in trockenem Zustande Hitzegrade von viel mehr als  $100^\circ$  vertragen, bestätigen auch Hüfner<sup>8</sup> und Hueppe.<sup>9</sup> Auch nach meinen Erfahrungen wird Kartoffelpreßsaft, auch wenn er auf  $160\text{--}170^\circ$  erhitzt wurde, nach einiger Zeit noch bräunlich. Die Oxydasen bilden also zwecks

---

<sup>1</sup> Oppenheimer, Die Fermente, p. 49.

<sup>2</sup> Catalase, A new Enzyme of general occurrence. U. S. Dep. of agriculture, Rep. Nr. 68 (1901); ders., Ber. d. Deutschen chem. Ges. 35, p. 2487 (1902); ders., Die chemische Energie der lebenden Zellen, München 1899.

<sup>3</sup> Zeitschr. f. physiol. Chemie, Bd. 42, 102 (1904).

<sup>4</sup> Lignossier, Comptes rend. Soc. biol. 5, 373.

<sup>5</sup> Verh. naturf. Ges. Basel I, 467, II, 9; Abh. Münchner Akad. 8, 38 (1856), 106.

<sup>6</sup> A. Bach u. R. Chodat, Unters. über d. Rolle d. Peroxyde in d. Chemie d. lebenden Zelle; Ber. d. D. chem. Ges. 35, 2466, 3943 (1902).

<sup>7</sup> U. S. Dep. of agriculture Rep. Nr. 8, 17; Observations on the mosaic disease of tobacco U. S. D. of agric., Bulet. Nr. 18.

<sup>8</sup> Journ. prakt. Chemie, Bd. XVII.

<sup>9</sup> Chem. Zentralbl. 1881, p. 745.

Verbrennung widerstandsfähiger Produkte, unter Aufnahme von molekularem Sauerstoff Peroxyde, während die Peroxydasen dieselben aktivieren. Die große Widerstandskraft der oxydierenden Fermente gegen Einwirkung hoher Temperaturen machen es wahrscheinlich, daß es Oxydasen sind, welche in den geschilderten Versuchen die Oxydation des gebotenen Zuckers und die damit verbundene Abgabe von  $\text{CO}_2$  bewirkten und die mit Erhöhung der Temperatur in ihrer Wirksamkeit allmählich geschwächt wurden. Nun zeigt aber, wie bereits dargelegt, auch der der toten Oxydation angehörende Teil der Verbrennungskurve von  $170^\circ$  an einen rapiden Fall und es macht den Eindruck, als ob an dieser Stelle das Oxydationsferment einem anderen oxydierenden Faktor gewichen wäre. Eine Möglichkeit, die mir manches Wahrscheinliche für sich zu haben scheint, ist, daß hier die Wirkung anderer katalytischer Substanzen eingesetzt habe, oder vielmehr nach dem Untergange des oxydierenden Ferments noch übrig geblieben sei. Tatsächlich sind nicht wenige Fälle beschrieben worden,<sup>1</sup> in welchen die charakteristischen Oxydasereaktionen bei völliger Abwesenheit von Oxydasen erzeugt wurden.<sup>2</sup> Namentlich aber sind es gewisse Metalle oder Metallsalze, welche eine wichtige Rolle bei der Funktion<sup>3</sup> der Oxydasen und Peroxydasen spielen, so nach Sacharoff,<sup>4</sup> Lépine,<sup>5</sup> Sarthou,<sup>6</sup> Loew, Aso und Sawa,<sup>7</sup> Aso und Pozzi-Escot<sup>8</sup> das Eisen, nach Villiers,<sup>9</sup> Vitali<sup>10</sup> besonders auch das Mangan, welche in fein verteiltem Zustand als aktivierende Elemente der Oxydasen und Peroxydasen

<sup>1</sup> T. Porodko, Zur Kenntnis der pflanzlichen Oxydasen. Beiheft z. bot. Zentralbl. XVI, H. 1, p. 1.

<sup>2</sup> Pohl, Arch. f. exp. Pathol. XXXVIII, 65—70; Bertrand, Comptes rend. T. 124, p. 1355; Bourquelot, Comptes rend. de la société de Biol. t. 49, 97, 402.

<sup>3</sup> Lippmann, Chemie d. Zuckerarten II, 1805.

<sup>4</sup> Chem. Ztg. 22, Ref. 321.

<sup>5</sup> Journ. de pharmacie VI, 9, 49.

<sup>6</sup> Ebendas., VI, 11, 583.

<sup>7</sup> Comptes rend. 1902 b., 1057.

<sup>8</sup> Ebendas., 1903, 343.

<sup>9</sup> Ebendas., 124, 1349.

<sup>10</sup> Chem. Ztg. 25, Ref. 212.

gelten können und von Trillat<sup>1</sup> sogar direkt als »metallische Enzyme« angesprochen werden. In der Peroxydaseasche,<sup>2</sup> die Bach und Chodat aus der Meerrettigwurzel isolierten, war 0·6% Mn enthalten. Die oben ausgesprochene Vermutung wird auch durch die Resultate der übrigen Versuchsreihen gestützt, welche ich zunächst anführen möchte, bevor ich auf die Frage eingehe, ob solche rein oxydative Vorgänge schon im Prozeß der Atmung enthalten seien.

## II. Hefe mit destilliertem Wasser.

I. Hefe lufttrocken: 9·31 g wurden mit 30  $\text{cm}^3$  destilliertem Wasser versetzt. Absorption nach 48<sup>h</sup>. Es trat etwas Selbstgärung ein, denn durch die Lieben'sche Probe ließ sich nach dem Prozeß Alkohol nachweisen, doch war seine Menge für die quantitative Feststellung zu gering, so daß wohl der größte Teil der gebildeten  $\text{CO}_2$  auf Rechnung der physiologischen Verbrennung zu setzen ist.

$\text{CO}_2$  gefunden . . . . . 0·1685 g, Alkohol qualitativ,  
 $\text{O}_2$  aufgenommen . . . . 0·1868 g.

Kontrollversuch: 10·84 g Hefe mit 34  $\text{cm}^3$  Wasser. Absorption nach 48<sup>h</sup>.

$\text{CO}_2$  gefunden . . . . . 0·1913 g  
 $\text{O}_2$  aufgenommen . . . . . 0·2095 g  
 Alkohol qualitativ (ziemlich reichliche Fällung).

II. Hefe lufttrocken: 10·22 g auf 50° erwärmt. Gewichtsabnahme 0·646 g = 6·32%. Wasser 35  $\text{cm}^3$ . Absorption nach 48<sup>h</sup>.

$\text{CO}_2$  gebildet . . . . . 0·1592 g  
 $\text{O}_2$  aufgenommen . . . . . 0·1635 g  
 Alkohol qualitativ.

<sup>1</sup> Compt. rend. 137, 922; 138, 94.

<sup>2</sup> Bach u. Chodat l. c.

Kontrollversuch: 9·97 g Hefe wie zuvor behandelt.  
Gewichtsverlust  $0·616\text{ g} = 6·18\%$ . Wasser  $34\text{ cm}^3$ . Absorption nach 48<sup>h</sup>.

CO<sub>2</sub> gebildet ..... 0·1559 g  
O<sub>2</sub> aufgenommen ..... 0·1601 g  
Alkohol qualitativ.

III. Hefe lufttrocken: 10·76 g auf 70° erwärmt. Gewichtsabnahme  $0·862\text{ g} = 8·01\%$ . Wasser  $36\text{ cm}^3$ . Absorption nach 48<sup>h</sup>.

CO<sub>2</sub> abgegeben ..... 0·1071 g  
O<sub>2</sub> aufgenommen ..... 0·1598 g  
Alkohol qualitativ.

Kontrollversuch: 10·29 g Hefe wie zuvor behandelt.  
Gewichtsverlust  $0·747\text{ g} = 7·26\%$ . Wasser  $36\text{ cm}^3$ . Absorption nach 48<sup>h</sup>.

CO<sub>2</sub> gebildet ..... 0·1080 g  
O<sub>2</sub> aufgenommen ..... 0·1554 g  
Alkohol qualitativ.

IV. Hefe lufttrocken: 11·06 g auf 90° erhitzt. Gewichtsabnahme  $1·23\text{ g} = 11·14\%$ . Wasser  $37\text{ cm}^3$ . Absorption nach 48<sup>h</sup>.

CO<sub>2</sub> abgegeben ..... 0·0918 g  
O<sub>2</sub> aufgenommen ..... 0·1015 g  
Alkohol qualitativ.

Kontrollversuch: Hefe 10·87 g wie zuvor behandelt.  
Gewichtsabnahme  $1·141\text{ g} = 10·5\%$ . Wasser  $36\text{ cm}^3$ . Absorption nach 48<sup>h</sup>.

CO<sub>2</sub> abgegeben ..... 0·0902 g  
O<sub>2</sub> aufgenommen ..... 0·0999 g

V. Hefe lufttrocken: 11·53 g auf 110° erhitzt. Gewichtsabnahme  $1·346\text{ g} = 11·67\%$ . Wasser  $39\text{ cm}^3$ . Absorption nach 48<sup>h</sup>.

CO<sub>2</sub> abgegeben . . . . . 0·0901 g  
 O<sub>2</sub> aufgenommen . . . . . 0·1102 g  
 Alkohol nicht nachzuweisen.

Kontrollversuch: Hefe 10·25 g ebenso behandelt. Gewichtsverlust  $1·311\text{ g} = 12·8\%$ . Wasser 35 cm<sup>3</sup>. Absorption 48<sup>h</sup>.

CO<sub>2</sub> abgegeben . . . . . 0·0893 g  
 O<sub>2</sub> aufgenommen . . . . . 0·1065 g  
 Alkohol nicht nachzuweisen.

VI. Hefe lufttrocken: 10·79 g auf 130° erhitzt. Gewichtsabnahme  $1·46\text{ g} = 13·56\%$ . Wasser 36 cm<sup>3</sup>. Absorption nach 48<sup>h</sup>.

CO<sub>2</sub> abgegeben . . . . . 0·1101 g  
 O<sub>2</sub> aufgenommen . . . . . 0·1349 g  
 Alkohol nicht nachzuweisen.

Kontrollversuch: 11·34 g wie zuvor behandelt. Gewichtsverlust  $1·622\text{ g} = 13·33\%$ . Wasser 39 cm<sup>3</sup>. Absorption 48<sup>h</sup>.

CO<sub>2</sub> abgegeben . . . . . 0·1043 g  
 O<sub>2</sub> aufgenommen . . . . . 0·1299 g  
 Kein Alkohol.

VII. Hefe lufttrocken. 10·35 g auf 150° erhitzt. Gewichtsabnahme  $1·46\text{ g} = 14·12\%$ . Wasser 36 cm<sup>3</sup>. Absorption nach 48<sup>h</sup>.

CO<sub>2</sub> abgegeben . . . . . 0·0431 g  
 O<sub>2</sub> aufgenommen . . . . . 0·0722 g  
 Kein Alkohol.

Kontrollversuch: 11·67 g ebenso behandelt. Gewichtsverlust  $1·365\text{ g} = 13·96\%$ . Wasser 39 cm<sup>3</sup>. Absorption nach 48<sup>h</sup>.

CO<sub>2</sub> abgegeben . . . . . 0·0666 g  
 O<sub>2</sub> aufgenommen . . . . . 0·0794 g  
 Kein Alkohol.



VIII. Hefe lufttrocken:  $12.01\text{ g}$  auf  $170^\circ$  erhitzt. Gewichtsabnahme  $1.727\text{ g} = 14.38\%$ . Wasser:  $41\text{ cm}^3$ . Absorption nach  $48^{\text{h}}$ .

$\text{CO}_2$  abgegeben .....  $0.0023\text{ g}$

$\text{O}_2$  aufgenommen .....  $0.0028\text{ g}$

Kein Alkohol.

Kontrollversuch:  $11.32\text{ g}$  ebenso behandelt. Gewichtsverlust  $1.72\text{ g} = 15.16\%$ . Wasser:  $39\text{ cm}^3$ . Absorption nach  $48^{\text{h}}$ .

$\text{CO}_2$  abgegeben .....  $0.0049\text{ g}$

$\text{O}_2$  aufgenommen .....  $0.0046\text{ g}$

Kein Alkohol.

Bei weiterer Erhitzung fand keine nachweisbare  $\text{CO}_2$ -Ausscheidung mehr statt, wiewohl eine weitere Aufnahme von  $\text{O}_2$  bis gegen  $200^\circ$  zu konstatieren war. Überdies kann die absolute Richtigkeit des letzten Versuches nicht mehr mit aller Gewißheit behauptet werden, zumal in der Kontrollprobe die Menge des aufgenommenen Sauerstoffs im Verhältnis zur exhaliierten  $\text{CO}_2$  von den Resultaten der übrigen Versuche abweicht.

Daß die Abgabe der  $\text{CO}_2$  in dieser Versuchsreihe früher zum Stillstand kam als in der vorherbeschriebenen, glaube ich damit erklären zu können, daß kein veratembares Material mehr vorhanden war, sondern sich bei dieser Temperatur, so z. B. das Glykogen<sup>1</sup> der Hefe bereits in einer Weise verändert hatte, die eine Weiteroxydation seitens der Oxydase nicht mehr gestattete. Es wurde daher eine Versuchsreihe angestellt, in welcher der Hefe ein nicht vergärbares Substrat geboten wurde, nämlich Asparagin und Chinasäure.<sup>2</sup>

<sup>1</sup> E. Laurent Annal. d. L. Soc. Belge de Microscopie, 1890.

<sup>2</sup> Jost, Vorlesungen über Pflanzenphysiologie, 251.

### III. Hefe in einer Asparagin-Chinasäurenährlösung.

I. Hefe lufttrocken:  $10.04\text{ g}$  wurden mit  $30\text{ cm}^3$  einer Lösung versetzt, die  $5\%$  Chinasäure und  $5\%$  Asparagin (beides Kahlbaumpräparate) enthielt. Absorption nach  $48^{\text{h}}$ .

$\text{CO}_2$  entwickelt .....  $0.1811\text{ g}$   
 $\text{O}_2$  aufgenommen .....  $0.1829\text{ g}$

Kontrollversuch:  $9.79\text{ g}$  mit  $30\text{ cm}^3$  Nährlösung versetzt. Absorption nach  $48^{\text{h}}$ .

$\text{CO}_2$  entwickelt .....  $0.1818\text{ g}$   
 $\text{O}_2$  aufgenommen .....  $0.1902\text{ g}$

II. Hefe lufttrocken:  $10.11\text{ g}$  auf  $50^\circ$  erwärmt. Gewichtsabnahme  $4.21\% = 0.4256\text{ g}$ . Nährlösung  $35\text{ cm}^3$ . Absorption  $48^{\text{h}}$ .

$\text{CO}_2$  entwickelt .....  $0.1199\text{ g}$   
 $\text{O}_2$  aufgenommen .....  $0.1234\text{ g}$

Kontrollversuch:  $10.17\text{ g}$  wie früher. Gewichtsabnahme  $0.541\text{ g} = 5.32\%$ . Nährlösung  $35\text{ cm}^3$ . Absorption nach  $48^{\text{h}}$ .

$\text{CO}_2$  entwickelt .....  $0.1576\text{ g}$   
 $\text{O}_2$  aufgenommen .....  $0.1668\text{ g}$

III. Hefe lufttrocken:  $10.08\text{ g}$  auf  $70^\circ$  erhitzt. Gewichtsverlust  $0.975\text{ g} = 9.67\%$ . Nährlösung  $36\text{ cm}^3$ . Absorption nach  $48^{\text{h}}$ .

$\text{CO}_2$  entwickelt .....  $0.0999\text{ g}$   
 $\text{O}_2$  aufgenommen .....  $0.1004\text{ g}$

Kontrollversuch:  $10.37\text{ g}$  wie zuvor. Gewichtsabnahme  $0.926\text{ g} = 8.93\%$ . Nährlösung  $36\text{ cm}^3$ . Absorption nach  $48^{\text{h}}$ .

$\text{CO}_2$  abgegeben .....  $0.0986\text{ g}$   
 $\text{O}_2$  aufgenommen .....  $0.1000\text{ g}$

IV. Hefe lufttrocken:  $10.89g$  auf  $90^{\circ}$  erhitzt. Gewichtsverlust  $1.1g = 10.18\%$ . Nährlösung  $37cm^3$ . Absorption nach 48<sup>h</sup>.

CO<sub>2</sub> abgegeben .....  $0.0916g$

O<sub>2</sub> aufgenommen .....  $0.0992g$

Kontrollversuch:  $11.56g$  ebenso behandelt. Gewichtsverlust  $1.16g = 10\%$ . Nährlösung  $37cm^3$ . Absorption nach 48<sup>h</sup>.

CO<sub>2</sub> entwickelt .....  $0.0909g$

O<sub>2</sub> aufgenommen .....  $0.1020g$

V. Hefe lufttrocken:  $10.56g$  auf  $110^{\circ}$  erhitzt. Gewichtsverlust  $1.28g = 12.14\%$ . Nährlösung  $39cm^3$ . Absorption nach 48<sup>h</sup>.

CO<sub>2</sub> entwickelt .....  $0.0903g$

O<sub>2</sub> absorbiert .....  $0.0995g$

Kontrollversuch:  $11.17g$  ebenso behandelt. Gewichtsverlust  $1.45g = 13.01\%$ . Nährlösung  $40cm^3$ . Absorption nach 48<sup>h</sup>.

CO<sub>2</sub> entwickelt .....  $0.0903g$

O<sub>2</sub> aufgenommen .....  $0.1009g$

VI. Hefe lufttrocken:  $10.83g$  auf  $130^{\circ}$  erhitzt. Gewichtsabnahme  $1.478g = 13.65\%$ . Nährlösung  $40cm^3$ . Absorption nach 48<sup>h</sup>.

CO<sub>2</sub> abgegeben .....  $0.0988g$

O<sub>2</sub> aufgenommen .....  $0.1112g$

Kontrollversuch:  $10.99g$  ebenso behandelt. Gewichtsabnahme  $1.51g = 13.73\%$ . Nährlösung  $40cm^3$ . Absorption nach 48<sup>h</sup>.

CO<sub>2</sub> abgegeben .....  $0.0959g$

O<sub>2</sub> aufgenommen .....  $0.1144g$

VII. Hefe lufttrocken:  $10\cdot35g$  auf  $150^{\circ}$  erhitzt. Gewichtsabnahme  $1\cdot43g \equiv 13\cdot78\%$ . Nährlösung  $39cm^3$ . Absorption nach  $48^h$ .

$CO_2$  abgegeben .....  $0\cdot0455g$

$O_2$  aufgenommen .....  $0\cdot0566g$

Kontrollversuch:  $11\cdot13g$  ebenso behandelt. Gewichtsverlust  $1\cdot6g \equiv 14\cdot5\%$ . Nährlösung  $40cm^3$ . Absorption nach  $48^h$ .

$CO_2$  abgegeben .....  $0\cdot0467g$

$O_2$  aufgenommen .....  $0\cdot0491g$

VIII. Hefe lufttrocken:  $11\cdot19g$  auf  $170^{\circ}$  erhitzt. Gewichtsabnahme  $1\cdot67g \equiv 14\cdot96\%$ . Nährlösung  $40cm^3$ . Absorption nach  $48^h$ .

$CO_2$  abgegeben .....  $0\cdot0035g$

$O_2$  aufgenommen .....  $0\cdot0049g$

Kontrollversuch:  $12\cdot04g$  ebenso behandelt. Gewichtsabnahme  $1\cdot8g \equiv 15\%$ . Nährlösung  $41cm^3$ . Absorption nach  $48^h$ .

$CO_2$  abgegeben .....  $0\cdot0061g$

$O_2$  aufgenommen .....  $0\cdot0066g$

IX. Hefe lufttrocken:  $11\cdot88g$  auf  $190^{\circ}$  erhitzt. Gewichtsverlust:  $1\cdot87g \equiv 15\cdot75\%$ . Nährlösung:  $40cm^3$ . Absorption nach  $48^h$ .

$CO_2$  abgegeben .....  $0\cdot0021g$

$O_2$  aufgenommen .....  $0\cdot0034g$

Kontrollversuch:  $12\cdot18g$  ebenso behandelt. Gewichtsverlust  $1\cdot9g \equiv 15\cdot68\%$ . Nährlösung  $41cm^3$ . Absorption nach  $48^h$ .

$CO_2$  abgegeben .....  $0\cdot0025g$

$O_2$  aufgenommen .....  $0\cdot0038g$

X. Hefe lufttrocken:  $12 \cdot 11 \text{ g}$  auf  $195^\circ$  erhitzt. Gewichtsabnahme  $1 \cdot 9 \text{ g} = 15 \cdot 83\%$ . Nährlösung:  $41 \text{ cm}^3$ . Absorption nach  $48^{\text{h}}$ .

$\text{CO}_2$  abgegeben . . . . .  $0 \cdot 0023 \text{ g}$

$\text{O}_2$  aufgenommen . . . . .  $0 \cdot 0036 \text{ g}$

Auch nachdem die Erhitzung bis  $200^\circ$  und  $205^\circ$  getrieben war, ergab sich noch eine minime  $\text{CO}_2$ -Ausscheidung, doch waren die erhaltenen Zahlen nicht mit hinlänglicher Sicherheit festzustellen. Über  $205^\circ$  hinaus war gar keine  $\text{CO}_2$ -Abgabe mehr zu beobachten, wiewohl analog den früheren Versuchsreihen Sauerstoff auch noch weiterhin absorbiert wurde. Auch in den parallel laufenden Versuchsanstellungen ist die Differenz zwischen den beobachteten Gasmengen öfters eine verhältnismäßig beträchtliche. Das hängt offenbar damit zusammen, daß doch nicht überall genau dieselben Hefemengen angewendet werden konnten, und mit den individuellen Verschiedenheiten der einzelnen Hefezellen überhaupt, die als solche und deren Zymase bei der Erhitzung mehr oder weniger gelitten hatten. Der Zweck der Versuche, annähernd das Verhalten der verwendeten Hefe bei progressiver Erhitzung zu zeigen, ist immerhin durch die gefundenen Zahlen erreicht. Die nachfolgenden Tabellen geben wieder die Durchschnittszahlen je zweier paralleler Versuche.

Schon Schönbein <sup>1</sup> hatte gefunden, daß die Hefe eine Ausnahme von der Regel mache, nach welcher Substanzen, die wie das Platin  $\text{H}_2\text{O}_2$  zerlegen, auch die  $\text{H}_2\text{O}_2$  haltige Guajac-tinktur bläuen. Gr ü ß <sup>2</sup> beobachtete dann, daß die Hefenoxydase Sauerstoff auf Di- und Tetraamine übertrage und verwendete daher zur Untersuchung der Hefenoxydase ein Reagenspapier, welches mit einer Lösung von Tetramethyl-p-Phenylendiamin-chlorid <sup>3</sup> getränkt war in Verbindung mit einem ebensolchen,

<sup>1</sup> Katalyt. Wirksamkeit organ. Materien etc. Münchner Akad. 2, 100 (1863).

<sup>2</sup> Über Oxydase-Erscheinungen der Hefe, Wochenschr. f. Brauerei, I, II, III, p. 310, 318, 335.

<sup>3</sup> Wurster, Ber. d. Deutschen chem. Ges. XIX, 3195 (1886).



Hefe mit Wasser.											
Nach 48h.											
	20°	50°	70°	90°	110°	130°	150°	170°	190°	170°	
Gramm in 48h											
Ausgeschiedene CO <sub>2</sub> .....	0·1799	0·1576	0·1076	0·0910	0·0897	0·1072	0·0548	0·0036			
Aufgenommener O <sub>2</sub> .....	0·1982	0·1618	0·1576	0·1007	0·1083	0·1324	0·0758	0·0037			
Nach 48h.											
Hefe mit 5% Chinasaure + 5% Asparagin.											
	20°	50°	70°	90°	110°	130°	150°	170°	190°	195°	
Gramm in 48h											
Ausgeschiedene CO <sub>2</sub> .....	0·1814	0·1388	0·0993	0·0913	0·0903	0·0874	0·0461	0·0048	0·0023	0·0023	
Aufgenommener O <sub>2</sub> .....	0·1865	0·1451	0·1002	0·1006	0·1002	0·1128	0·0528	0·0058	0·0036	0·0036	

das aber noch mit einer bei  $15^{\circ}$  gesättigten Sodalösung behandelt war. Auf solchen Papieren ruft dann Hefe sofort oder nach einiger Zeit Erscheinungen hervor, die zur Beurteilung der Oxydase dienen können. Um nun die tote Oxydation unabhängig von der Anwendung hoher Temperaturen studieren zu können, ging ich folgendermaßen vor.

#### IV. Versuche mit Dauerhefe.

I. Schroder'sches Zymin, zirka 10 g, wurde mit der doppelten Menge feinstgepulverten Quarzsandes, welcher vorher mit Königswasser gewaschen worden war, vermengt und zunächst trocken, dann unter Zugabe von  $25\text{ cm}^3$  Wasser ganz nach Buchner's Angabe<sup>1</sup> mehrere Stunden in einer großen Reibschale innig verrieben, sodann in Preßtücher eingeschlagen und hydraulisch abgepreßt. Diese Operation diente zur Entfernung der Zymase, die als Endoenzym<sup>2</sup> ohne Zerstörung der Zellwände und des Plasmaschlauches nicht aus den Zellen herauszubringen ist. Die mikroskopische Untersuchung ergab denn auch, daß die meisten Zellhäute geplatzt oder zerrissen waren. Der Preßkuchen wurde mit wässerigem Glyzerin wiederholt extrahiert<sup>3</sup>, wodurch die Zymase entfernt wurde. Der Brei ward hierauf mit Alkohol, dann mit Äther gewaschen und schließlich bei  $36^{\circ}$  getrocknet. Der so behandelte Preßkuchen zeigte weder mit Tetrapapier noch mit Tetrasodapapier die geringste Reaktion, ein Beweis, daß durch das beschriebene Verfahren auch die Oxydase entfernt worden war. Die Hälfte des Gemenges mit zirka 5 g Zymin wurde mit  $15\text{ cm}^3$  der vorherbeschriebenen Nährlösung versetzt. Absorption nach 48<sup>h</sup>.

CO <sub>2</sub> abgegeben . . . . .	0·0019 g
O <sub>2</sub> aufgenommen . . . . .	0·0042 g

<sup>1</sup> Buchner-Hahn, Die Zymasegärung, p. 248.

<sup>2</sup> Hahn, Ber. d. Deutschen chem. Ges. XXVIII, p. 3038 (1895).

<sup>3</sup> Gunning, Just's bot. Jahresber. 1873, p. 136.

Die andere Hälfte, zum Kontrollversuche in derselben Weise verwendet, ergab

CO <sub>2</sub> .....	0·0022 g
O <sub>2</sub> .....	0·0046 g

II. 5 g Schroder'sches Zymin wurde mit 15 cm<sup>3</sup> der Nährlösung versetzt. Das Zymin gab auf Tetrapapier demselben eine leichtviolette Färbung, während es selbst sowie eine Rundzone um dasselbe farblos blieb. Farblos blieb auch das Tetrasodapapier. Absorption nach 48<sup>h</sup>.

CO <sub>2</sub> -Abgabe .....	0·0415 g
O <sub>2</sub> -Aufnahme .....	0·0409 g

Die Oxydase wirkt nach Grüß<sup>1</sup> auf Asparagin ein. Mit Wasser statt der Nährlösung resultierten gemäß den Angaben von Gromow und Grigoriew<sup>2</sup> fast genau gleiche Zahlen, doch zeigt schon die beträchtliche Sauerstoffaufnahme, sowie das Resultat der späteren Versuche, in welchen die Wirksamkeit der Zymase gänzlich ausgeschaltet worden war, daß diese Zahlen nicht nur auf Rechnung der Selbstgärung, sondern auch der Oxydasenwirkung zuzuschreiben sind.

III. Um die umständliche Prozedur des Zerreibens, welche zudem nicht die Sicherheit der Vollständigkeit bot, zu ersparen, wendete ich zur Zerstörung der Zymase die Behandlung mit Methylalkohol an. Buchner<sup>3</sup> sagt, daß durch Anwendung desselben die Zymase völlig vernichtet werde.

5 g Zymin wurden dreimal mit frischem Methylalkohol digeriert, auf der Nutsche abgesogen, mit Alkohol-Äther gewaschen und bei 35° getrocknet. Die Dauerhefe entwickelte nach dieser Behandlung mit Rohrzuckerlösung keine Spur Alkohol. Die Oxydasereaktion trat jedoch nach wie vor ein, wenn auch etwas schwächer und nach längerer Dauer. Es

<sup>1</sup> L. c.

<sup>2</sup> Die Arbeit der Zymase und der Endotryptase in den abgetöteten Hefezellen etc., Zeitschr. f. physiol. Chemie, XLII, Heft 4, p. 313.

<sup>3</sup> L. c. p. 232.

wurden wieder 15  $\text{cm}^3$  Nährlösung hinzugefügt. Absorption nach 48<sup>h</sup>.

$\text{CO}_2$  abgegeben.....0·0163 g

$\text{O}_2$  aufgenommen .....0·0241 g

Kontrollversuch: 5 g wie zuvor behandeltes Zymin verwendet.

$\text{CO}_2$  .....0·0099 g

$\text{O}_2$  .....0·0187 g

IV. 5 g wie zuvor behandeltes Zymin wurden wiederholt mit wässriger Glyzerinlösung ausgezogen. Das getrocknete Produkt gab keine Oxydasereaktion. Nährlösung 15  $\text{cm}^3$ . Absorption nach 48<sup>h</sup>.

$\text{CO}_2$  abgegeben .....0·0035 g

$\text{O}_2$  aufgenommen.....0·0058 g

Kontrollversuch: Versuchsanordnung wie zuvor.

$\text{CO}_2$  abgegeben .....0·0039 g

$\text{O}_2$  aufgenommen .....0·0055 g

V. Frische Preßhefe wurde ganz nach Alberts<sup>1</sup> Vorschrift in Aceton-Äther eingetragen und die Dauerhefe hierauf solange mit Methylalkohol behandelt, bis das anfangs rötliche Filtrat farblos ablief. Das Produkt zeigte keine Gärungserscheinungen, wohl aber die Oxydasereaktion. Nährlösung 15  $\text{cm}^3$ . Absorption nach 48<sup>h</sup>. Menge des Produktes 6·48 g.

$\text{CO}_2$  abgegeben .....0·0171 g

$\text{O}_2$  aufgenommen .....0·0206 g

Kontrollversuch: Zirka 8 g selbstbereiteter Dauerhefe wiederholt mit Methylalkohol gewaschen, hierauf getrocknet. Versuchsanordnung wie zuvor.

$\text{CO}_2$  abgegeben .....0·0210 g

$\text{O}_2$  aufgenommen .. .....0·0339 g

<sup>1</sup> Buchner-Hahn, Zymasegärung, p. 266.

VI. Selbsbereitete, mit Methylalkohol gewaschene Dauerhefe wurde wiederholt mit wässrigem Glycerin extrahiert. Keine Gärungs- und Oxydaseerscheinungen. Nährlösung  $15\text{ cm}^3$ . Absorption nach  $48^{\text{h}}$ . Menge zirka 7 g.

$\text{CO}_2$ -Abgabe .....  $0\cdot0027\text{ g}$

$\text{O}_2$ -Aufnahme .....  $0\cdot0029\text{ g}$

Kontrollversuch: Anordnung wie zuvor. Menge  $6\cdot59\text{ g}$ .

$\text{CO}_2$ -Abgabe .....  $0\cdot0025\text{ g}$

$\text{O}_2$ -Aufnahme .....  $0\cdot0030\text{ g}$

Die frische Hefe zeigte die Größ'schen Reaktionen sehr intensiv. Auf Tetrapapier sowie Tetrasodapapier färbte sie sich nach und nach dunkelviolet, während das Papier im Umkreis farblos blieb. Die Versuche wurden auch mit zerriebener Hefe, welche mit Methylalkohol behandelt worden war, angestellt, die Resultate ergaben kein neues Moment.

Dauerhefe mit Asparagin + Chinasäure nach $48^{\text{h}}$						
Schroder's Zymin		Zymin, mit Glycerin- lösung extrahiert	Zymin, Zymase durch $\text{CH}_3\text{OH}$ zerstört	Zymin nach Behand- lung mit $\text{CH}_3\text{OH}$ und Glycerinlösung	Selbstbereitete Dauer- hefe nach Alberts Vorschrift	Selbstbereitete Dauer- hefe wie zuvor mit $\text{CH}_3\text{OH}$ und Glycerin behandelt
Abgegeb. g $\text{CO}_2$	0·0415	0·0021	0·0131	0·0037	0·0191	0·0026
Aufgen. g $\text{O}_2$	0 0409	0·0044	0·0214	0·0057	0·0273	0·00295

Hier seien die Ergebnisse der Versuche angeschlossen, welche bezweckten, das Verhalten verschieden hoch erhitzter Hefe im luftleeren Raume zu studieren. Die Versuchsanordnung



war dieselbe wie früher, nur daß die Vorkehrungen, welche der Sauerstoffmessung dienten, wegfielen.

### V. Hefe mit 10prozentiger Dextroselösung.

I. 10·99 g lufttrockene Hefe wurden in den Kolben gebracht und mittels der Quecksilberluftpumpe die Luft völlig entfernt. Hierauf 20  $cm^3$  10prozentiger Dextroselösung allmählich zufließen gelassen. Absorption nach 48<sup>h</sup>.

CO<sub>2</sub> entwickelt: .....0·9759 g

Alkohol gebildet .....0·9988 g

Der gebotene Zucker war vollkommen zerlegt worden und der gebildete Alkohol sowie die entstandene CO<sub>2</sub> entstammen vollständig der Zymasearbeit.

II. 11·25 g lufttrockener Hefe wurden auf 70° erhitzt. 25  $cm^3$  Zuckerlösung. Absorption nach 48<sup>h</sup>.

Zucker gefunden .....0·6698 g, daher

Zucker zerlegt .....1·8302 g = 73·21<sup>0</sup>/<sub>10</sub>

CO<sub>2</sub> entwickelt .....0·8901 g

Alkohol entwickelt .....0·9192 g

III. 10·47 g lufttrockene Hefe wurden auf 110° erhitzt. 28  $cm^3$  Zuckerlösung. Absorption nach 48<sup>h</sup>.

Zucker gefunden .....2·0611 g, daher

Zucker zerlegt .....0·7389 g = 26·39<sup>0</sup>/<sub>10</sub>

CO<sub>2</sub> entwickelt .....0·3594 g

Alkohol entwickelt .....0·3701 g

IV. 10·70 g lufttrockene Hefe wurden auf 130° erhitzt. 29  $cm^3$  Zuckerlösung. Absorption nach 48<sup>h</sup>.

Gefundener Zucker .....2·6097 g, daher

Zerlegter « .....0·2903 g = 10·01<sup>0</sup>/<sub>10</sub>

CO<sub>2</sub> gefunden... .....0·1394 g

Alkohol .. .....0·1466 g

V. 11·35 g lufttrockene Hefe wurden auf 150° erhitzt. 30 cm<sup>3</sup> Zuckerlösung. Absorption nach 48<sup>h</sup>. Der zerlegte Zucker war nicht mehr bestimmbar. CO<sub>2</sub>-Ausscheidung 0·0020 g. Alkohol qualitativ.

Wurde die Temperatur noch höher getrieben, so fand eine CO<sub>2</sub>-Abgabe nicht mehr statt.

Wurde der Hefe statt Zuckers Wasser oder Asparagin + Chinasäure verabreicht, so fand eine geringe CO<sub>2</sub>-Abgabe nur bis etwa 70° statt, offenbar nur solange, als eine nennenswerte intramolekulare Verarbeitung des Hefeglykogens vor sich gehen konnte. Warum dieselbe nicht auch noch nach stärkerer Erhitzung im luftleeren Raum stattfindet wie in den Versuchsreihen III und IV, kann nicht mit Sicherheit gesagt werden. Vermutlich war eben früher die Wirkung der Oxydase im Spiel. Die erhaltenen Zahlen sind aber so schwankend, daß sie nicht mitgeteilt werden können.

Hefe im luftleeren Raum mit 10prozentiger Dextroselösung nach 48 <sup>h</sup> .			
	In der Gärung zerlegter Zucker	Durch Gärung entwickelte CO <sub>2</sub> in g	Durch Gärung gebildeter Alkohol in g
20°	2 g = 100 <sup>0</sup> / <sub>0</sub>	0·9759	0·9988
70°	1·8302 g = 73·21 <sup>0</sup> / <sub>0</sub>	0·8901	0·9192
110°	0·7389 g = 26·39 <sup>0</sup> / <sub>0</sub>	0·3594	0·3701
130°	0·2903 g = 10·01 <sup>0</sup> / <sub>0</sub>	0·1394	0·1466
150°	nicht bestimmbar	0·0020	qualitativ

## VI. Versuche mit einer Hefereinkultur.

Um die Resultate der vorbeschriebenen Versuche nach allen Richtungen zu sichern, wurden die wesentlichsten Prozesse mit einer Reinkultur von obergäriger Preßhefe B wiederholt, welche ich der Freundlichkeit des Herrn Dr. H. Zikes, Dozenten an der hiesigen Brauereiakademie, verdanke.

Die reinkultivierte Hefe wurde in der üblichen Weise in drei Pasteurkolben zu je 2 l auf Bierwürze überimpft und acht Tage bei einer konstanten Temperatur von 25° sich entwickeln gelassen. Hierauf in der Hansen'schen Kammer auf der Nutsche abgesogen, mit sterilisiertem Wasser gewaschen und im sterilisierten Filtrierpapier unter einer Glasglocke aufbewahrt, bis sie nach der oben beschriebenen Methode lufttrocken gemacht werden konnte.

I. Hefe lufttrocken: 3.83 g erhielten 10 cm<sup>3</sup> einer Lösung, die 5% Asparagin und 5% Chinasäure enthielt. Absorption nach 48<sup>h</sup>.

CO<sub>2</sub> entwickelt ..... 0.0758 g  
O<sub>2</sub> aufgenommen ..... 0.1002 g

Alkohol war keiner gebildet worden.

II. Hefe lufttrocken: 5.17 g wurden langsam auf 110° erwärmt. Gewichtsverlust 0.689 g = 13.33%. Nährlösung 13 cm<sup>3</sup>. Absorption nach 48<sup>h</sup>.

CO<sub>2</sub> entwickelt ..... 0.0391 g  
O<sub>2</sub> aufgenommen ..... 0.0831 g

III. Hefe lufttrocken: 4.36 g wurden auf 120° erhitzt. Gewichtsabnahme 0.61 g = 14%. Nährlösung 13 cm<sup>3</sup>. Absorption nach 48<sup>h</sup>.

CO<sub>2</sub> entwickelt ..... 0.0402 g  
O<sub>2</sub> aufgenommen ..... 0.0998 g

IV. Hefe lufttrocken: 4.97 g wurden auf 150° erhitzt. Gewichtsabnahme 0.7 g = 14.36%. Nährlösung 14 cm<sup>3</sup>. Absorption nach 48<sup>h</sup>.

CO<sub>2</sub> entwickelt ..... 0.0253 g  
O<sub>2</sub> aufgenommen ..... 0.0511 g

V. Hefe, lufttrocken:  $5.25\text{ g}$  auf  $170^\circ$  erhitzt. Gewichtsabnahme:  $0.8\text{ g} = 15.24\%$ . Nährlösung  $15\text{ cm}^3$ . Absorption nach  $48^{\text{h}}$ .

$\text{CO}_2$  entwickelt .....  $0.0041\text{ g}$

$\text{O}_2$  aufgenommen .....  $0.0102\text{ g}$

VI. Hefe, lufttrocken:  $4.14\text{ g}$  auf  $190^\circ$  erhitzt. Gewichtsabnahme:  $0.83\text{ g} = 20\%$ . Nährlösung  $18\text{ cm}^3$ . Absorption nach  $48^{\text{h}}$ .

$\text{CO}_2$ -Ausscheidung nicht mehr nachweisbar

$\text{O}_2$ -Aufnahme .....  $0.0038\text{ g}$

Auch bei  $205^\circ$  konnte ich noch eine geringe Sauerstoffaufnahme konstatieren.

VII. Lufttrockene Hefe, welche, auf Tetrapapier gebracht, lebhafte Oxydasereaktion nach Grüss aufwies, wurde wie in Versuch V der Versuchsreihe mit Dauerhefe in Aceton-Äther eingetragen und hierauf mit Methylalkohol behandelt. Das Produkt zeigte noch immer Oxydasereaktion, wenn auch in geschwächtem Maße. Es wurden der getrockneten Dauerhefe:  $4.21\text{ g}$  an Asparagin-Chinasäurelösung  $10\text{ cm}^3$  geboten Absorption nach  $48^{\text{h}}$ .

$\text{CO}_2$  abgegeben .....  $0.0097\text{ g}$

$\text{O}_2$  aufgenommen .....  $0.0186\text{ g}$

VIII. Dauerhefe aus der Reinkultur der Preßhefe B wurde nach der Behandlung mit Methylalkohol noch mit wässriger Glycerinlösung wiederholt extrahiert. Die Oxydasereaktion trat innerhalb  $24^{\text{h}}$  nicht mehr ein. Das getrocknete Produkt:  $5.34\text{ g}$  wurde mit  $10\text{ cm}^3$  der Asparagin-Chinasäurelösung versetzt. Absorption nach  $48^{\text{h}}$ .

$\text{CO}_2$  abgegeben .....  $0.0019\text{ g}$

$\text{O}_2$  aufgenommen .....  $0.0033\text{ g}$

Es traten also hier im großen und ganzen dieselben Erscheinungen zu Tage, wie sie auch bei der früher verwendeten Preßhefe sich gezeigt hatten.

Gaswechsel nach 48<sup>h</sup>.

Reinkultur der Preßhefe B mit Asparagin + Chinasäure.

Die Menge der verwendeten lufttrockenen Hefe war durchschnittlich halb so groß als in den früheren Versuchen.

	20°	110°	120°	150°	170°	190°	Dauerhefe mit CH <sub>3</sub> OH behand.	Dauerhefe mit CH <sub>3</sub> OH und Glycerin behand.
Abgegeb. Gramm CO <sub>2</sub>	0·0758	0·0391	0·0402	0·0253	0·0041	nicht nachweisbar	0·0097	0·0019
Aufgen. Gramm O <sub>2</sub>	0·1002	0·0831	0·0998	0·0511	0·0102	0·0038	0·0186	0·0033

VII. Versuche mit *Eupatorium adenophorum*.

I. Junge, durchwegs gesunde Blätter wurden hart an der lamina abgeschnitten, zwischen sterilisiertem Filtrierpapier sorgfältig getrocknet und gewogen; es wurde darauf Rücksicht genommen, daß möglichst gleich gut entwickelte Blätter zur Verwendung gelangten. Die Bestimmung des Gaswechsels ward genau in derselben Weise vorgenommen wie bei der Hefe. Die Blätter erhielten 10 *cm*<sup>3</sup> destillierten Wassers. Absorption nach 48<sup>h</sup>. Der Kolben war mit einem schwarzen Tuch bedeckt.

Abgegebene CO<sub>2</sub> ..... 0·1064 gAufgenommener O<sub>2</sub> ... 0·0811 g

Gewicht der verwendeten Blätter: 7·4635 g.

Kontrollversuch:

Abgegebene CO<sub>2</sub> ..... 0·1219 gAufgenommener O<sub>2</sub> ..... 0·0899 g

Gewicht der verwendeten Blätter: 7·9811 g. Wasser: 10 *cm*<sup>3</sup>.



II. Frische Eupatoriumblätter wurden zwei Tage im Exsikkator über  $\text{H}_2\text{SO}_4$  aufgestellt und dann durch 48<sup>h</sup> bei 35° getrocknet. Frischgewicht: 10·9888 g. Gewichtsabnahme: 3·9936 g. Absorption nach 48<sup>h</sup>. Wasser: 14  $\text{cm}^3$ .

Abgegebene  $\text{CO}_2$  ..... 0·0876 g

Aufgenommener  $\text{O}_2$  ..... 0·0838 g

Kontrollversuch: Frischgewicht: 11·3422 g. Gewichtsabnahme: 4·1918 g. Wasser 14  $\text{cm}^3$ .

Abgegebene  $\text{CO}_2$  ..... 0·0898 g

Aufgenommener  $\text{O}_2$  ..... 0·0800 g

III. Frische Eupatoriumblätter bei 35° getrocknet, dann allmählich auf 50° gebracht und dort 5<sup>h</sup> gehalten. Frischgewicht: 15·2136 g. Abnahme: 8·7308 g. Wasser: 19  $\text{cm}^3$ . Absorption nach 48<sup>h</sup>.

Abgegebene  $\text{CO}_2$  ..... 0·0183 g

Aufgenommener  $\text{O}_2$  ..... 0·0192 g

Kontrollversuch: Frischgewicht: 16·7009 g. Abnahme: 9·1244 g. Wasser: 19  $\text{cm}^3$ . Absorption nach 48<sup>h</sup>.

Abgegebene  $\text{CO}_2$  ..... 0·0199 g

Aufgenommener  $\text{O}_2$  ..... 0·0199 g

IV. Blätter wie vorher auf 110° erhitzt. Frischgewicht: 16·5512 g. Abnahme: 9·7653 g. Wasser: 20  $\text{cm}^3$ . Absorption nach 48<sup>h</sup>.

Abgegebene  $\text{CO}_2$  ..... 0·0088 g  $\text{CO}_2$

Aufgenommener  $\text{O}_2$  ..... 0·0097 g

Kontrollversuch: Frischgewicht: 17·0572 g. Abnahme: 10·1234 g. Wasser: 20  $\text{cm}^3$ . Absorption nach 48<sup>h</sup>.

Abgegebene  $\text{CO}_2$  ..... 0·0091 g

Aufgenommener  $\text{O}_2$  ..... 0·0109 g

V. Blätter wie vorher auf  $160^{\circ}$  erhitzt. Frischgewicht:  $17.2132\text{ g}$ . Abnahme:  $10.5344\text{ g}$ . Wasser:  $21\text{ cm}^3$ . Absorption nach  $48^{\text{h}}$ .

Abgegebene  $\text{CO}_2$  .....  $0.0069\text{ g}$

Aufgenommener  $\text{O}_2$  .....  $0.0083\text{ g}$

Kontrollversuch: Frischgewicht:  $17.9031\text{ g}$ . Abnahme:  $10.4993\text{ g}$ . Wasser:  $21\text{ cm}^3$ . Absorption nach  $48^{\text{h}}$ .

Abgegebene  $\text{CO}_2$  .....  $0.0051\text{ g}$

Aufgenommener  $\text{O}_2$  .....  $0.0067\text{ g}$

Höheres Erhitzen lieferte keine nachweisbare  $\text{CO}_2$  mehr, wohl aber  $\text{O}_2$ -Aufnahme.

VI. Die heftigen Fröste der ersten Jännertage des heurigen Jahres benützte ich auch dazu, Eupatoriumblätter unter längere Einwirkung einer sehr niedrigen Temperatur zu bringen und den Gaswechsel so behandelter Blätter zu studieren.

Bei  $35^{\circ}$  wie vorher getrocknete Blätter wurden in sterilisiertes Filtrierpapier eingeschlagen, drei Tage bei einer Temperatur von  $-16^{\circ}\text{ C}$ . frieren gelassen. Frischgewicht:  $7.4811\text{ g}$ . Gewichtsabnahme:  $2.0554\text{ g}$ . Wasser  $12\text{ cm}^3$ . Absorption nach  $48^{\text{h}}$ .

$\text{CO}_2$ -Abgabe .....  $0.0213\text{ g}$

$\text{O}_2$ -Aufnahme .....  $0.0380\text{ g}$

VII. Frische Blätter wurden nach Buchner's Vorschrift für Hefe mit Aceton-Äther behandelt, wodurch das Plasma abgetötet wird. Hierauf bei  $35^{\circ}$  getrocknet. Frischgewicht:  $10.9315\text{ g}$ . Gewichtsverlust:  $3.8762\text{ g}$ . Wasser  $14\text{ cm}^3$ . Absorption nach  $48^{\text{h}}$ .

Abgegebene  $\text{CO}_2$  .....  $0.0113\text{ g}$

Aufgenommene  $\text{O}_2$  .....  $0.0197\text{ g}$ .

Kontrollversuch: Frischgewicht:  $11.5388\text{ g}$ . Gewichtsabnahme:  $4.4949\text{ g}$ . Wasser:  $15\text{ cm}^3$ . Absorption nach  $48^{\text{h}}$ .

Abgegebene  $\text{CO}_2$  .....  $0.0142\text{ g}$

Aufgenommener  $\text{O}_2$  .....  $0.0301\text{ g}$ .

Gaswechsel nach 48h.      Blätter von <i>Eupatorium adenophorum</i> mit Wasser:									
	20°	35°	50°	110°	160°	nach Trocknen bei 35° — 16°	mit Aceton- äther behandelt	mit Aceton-Äther behandelt und mit Glycerin extrahiert	
Gewicht der Blätter in Gramm.....	7·7223	11·1655	15·9573	16·8042	17·5581	7·4811	11·2351		
Gebotenes H <sub>2</sub> O in Kubik- zentimetern .....	10	14	19	20	21	12	14		
Abgegebene Gramm CO <sub>2</sub> .	0·1142	0·0887	0·0191	0·00895	0·0060	0·0213	0·0128	—	
Aufgenommene Gramm O <sub>2</sub>	0·0855	0·0819	0·0196	0·0103	0·0075	0·0380	0·0249	—	

Sowohl der Preßsaft der frischen als auch der abgetöteten Blätter gab mit alkoholischer Guajaktinktur nach Zusatz von  $\text{H}_2\text{O}_2$  eine Blaufärbung.

VIII. Die nach VII. behandelten Blätter wurden noch wiederholt mit wässerigem Glyzerin extrahiert, mit Alkohol-äther gewaschen und bei  $35^\circ$  getrocknet. Sie zeigten keinerlei Gaswechsel mehr.

Aus den Resultaten der mitgeteilten Versuche ergibt sich, daß sich in der Zelle auch nach dem Aufhören der plasmatischen Atmungstätigkeit, wenn also das Plasma auf diese oder jene Weise abgetötet wurde, Oxydationsvorgänge abspielen, welche analog der physiologischen Verbrennung in gesetzmäßiger Weise durch die Aufnahme von Sauerstoff und Abgabe von Kohlendioxyd gekennzeichnet sind, daß also im Organismus unter den genannten Verhältnissen eine tote Oxydation zur Geltung kommt. Ob diese »tote Oxydation« wirklich erst einsetzt, wenn das Plasma aufgehört hat zu leben, oder ob sie schon während des normalen Verlaufes der Atmungstätigkeit wirkt, gedeckt von der im lebenden Plasma wirkenden »physiologischen Oxydation«, welche sie an der Lebensgrenze ablöst, oder ob sie nur ein Teil eines Prozesses ist, der auch im lebenden Organismus mechanisch, d. h. ohne direkte Mitarbeit der lebenden Substanz, etwa durch bloße Enzymwirkung verläuft, ist nach wie vor eine offene Frage. Die beiden extremen Standpunkte sind von Pfeffer und Reinke vertreten. Allerdings gibt auch Pfeffer<sup>1</sup> zu, daß die Oxydationsfermente vielleicht teilweise schon in der lebenden Zelle als Sauerstoff übertragende Katalysatoren fungieren, im allgemeinen aber nimmt er deren Wirkung als »postmortal«<sup>2</sup> an und die lebende Zelle darf nach ihm nicht nach den Reaktionen beurteilt werden, die »mit dem Tode und in den ausgepreßten Säften eintreten«.

Dagegen stellt sich Reinke<sup>3</sup> vor, daß in jeder lebens-tätigen Zelle Autoxydatoren gebildet werden, welche sich unter

---

<sup>1</sup> Pflanzenphysiologie. I., 503, Pfeffer: Oxydationsvorgänge in lebenden Zellen. K. sächs. Akad. d. Wiss. XV., 491.

<sup>2</sup> L. c. p. 553.

<sup>3</sup> Bot. Zeitg., XLI., 6, 98 (1883).

Aufnahme von molekularem Sauerstoff unter Wasserzersetzung oxydieren; das entstehende Wasserstoffsuperoxyd vermag dann unter Einwirkung von Fermenten Oxydationen mit ähnlicher Energie auszuführen wie der atomistische Sauerstoff. Später teilte dann Reinke<sup>1</sup> die Versuche Brenstein's<sup>2</sup> mit, welcher bei Pflanzenteilen, die durch Erhitzung auf 100° getötet waren, noch beträchtliche Kohlensäureabgabe und Zersetzung von Glykose konstatieren konnte. Wiewohl nun die durch tote Oxydation gebildete CO<sub>2</sub>menge in gar keinem Verhältnis zu der im Lebensvorgange durch die physiologische Verbrennung extrahierten steht, ist doch die Vermutung, welche Moritz Traube<sup>3</sup> zuerst im Jahre 1858 ausgesprochen hat, daß auch die physiologische Verbrennung im Prinzip ein katalytischer Prozeß sei, nicht von der Hand zu weisen. In neuerer Zeit hat A. Bach<sup>4</sup> die Entstehung von Peroxyden im Organismus bei den Oxydationsvorgängen der physiologischen Verbrennung nachgewiesen. Nach Bach und Chodat<sup>5</sup> enthält die lebende Zelle zu diesem Zwecke Oxydasen<sup>6</sup> und Peroxydasen, von welchen die Peroxydase die weitaus beständigere ist. Nach Bertrand<sup>7</sup> wird die spezifische Wirkung der Oxydase durch Zusatz von Manganosulfat stark beschleunigt. Das Wesentliche an den Untersuchungen von Bach und Chodat für unsere Frage ist der experimentelle Nachweis, daß Peroxydbildung auch während des Lebens der Zelle stattfindet, während ja von Pfeffer die Anschauung ausgesprochen wurde, daß die im Pflanzensaft beobachteten Oxydationsvorgänge eine post-mortale Erscheinung seien. Kolkwitz<sup>7</sup> hat die Beobachtung gemacht, daß die »Atmung« nicht ausblieb, auch wenn Samen

<sup>1</sup> Ber. d. Deutschen bot. Ges. 1887, Bd. V, p. 216.

<sup>2</sup> Über die Produktion von Kohlensäure durch getötete Pflanzenteile. Brenstein, Rostocker Dissertation 1887, zitiert bei Pfeffer, Oxydationsvorgänge, p. 509.

<sup>3</sup> Neumeister, Betrachtungen über das Wesen der Lebenserscheinungen Jena 1903, p. 90.

<sup>4</sup> Compt. rend. Tome CXXIV, p. 951 (1897).

<sup>5</sup> Ber. d. Deutschen chem. Ges. XXXV. (1902), 2466.

<sup>6</sup> Kastle u. Leonhart, Am. chem. Journ. 26, 539 (1901).

<sup>7</sup> Compt. rend. 124, 1335 (1887).

<sup>8</sup> Ber. d. Deutschen bot. Ges. 1901, Bd. XIX., 285.



mehrere Stunden auf  $100^{\circ}$  erhitzt worden waren. Beyerinck<sup>1</sup> äußert sich folgendermaßen: Hefe, die durch mehrere Stunden auf über  $100^{\circ}$  erhitzt worden ist und infolgedessen keine Entwicklungsfähigkeit besitzt, kann nicht als tot bezeichnet werden. Der Gesamtorganismus als solcher ist jedenfalls tot, denn er assimiliert nicht mehr und ist nicht mehr entwicklungsfähig. Zerlegen wir ihn aber in seine Konstituenten, so sind diejenigen, welche als Sitz der Assimilationstätigkeit und des Wachstums zu bezeichnen sind, jedenfalls tot, nicht aber die übrigen Konstituenten der Zelle, welche mit Assimilation und Wachstum direkt nichts zu tun haben, denn es ist fraglich, ob diese jemals als lebend zu betrachten waren. Maximow<sup>2</sup> konstatierte an dem Preßsaft aus dem Mycel von *Aspergillus niger* einen der Atmung analogen Gaswechsel, welcher das Resultat der Tätigkeit zweier verschiedener Enzyme ist, einer höchst widerstandsfähigen Oxydase, welche die Sauerstoffaufnahme besorgt und eines labilaren  $\text{CO}_2$  abspaltenden Enzyms, welches auch in Wasserstoffatmosphäre gleich energisch arbeitet, während Brenstein in seinen Versuchen ein Aufhören der  $\text{CO}_2$ abgabe im Wasserstoffstrom beobachtete. So wie ich, fand auch Maximow, daß die Sauerstoffaufnahme noch vor sich geht, wenn die  $\text{CO}_2$ abgabe längst aufgehört hat. Schon Pfeffer<sup>3</sup> hat darauf hingewiesen, daß beide Prozesse nicht unmittelbar zusammenhängen müssen, sondern genetisch verkettet, durch Zwischenprozesse getrennt sein können. Auch Kostytschew<sup>4</sup> spricht die Vermutung aus, daß  $\text{CO}_2$ ausscheidung und Sauerstoffabsorption zwei gesonderte Vorgänge sind. Daß die Oxydasen imstande sind, Glykose zu oxydieren, hat schon Hahn<sup>5</sup> beobachtet. Was die Ergebnisse meiner eigenen Versuche anlangt, möchte ich sie folgendermaßen zusammenfassen:

<sup>1</sup> Zentralbl. f. Bakt., II. Abt., 3, 454 (1897).

<sup>2</sup> Ber. d. Deutschen bot. Ges., XXII., 4, (1904), 225.

<sup>3</sup> L. c. 492.

<sup>4</sup> Pringsheims, Jahrb. d. wiss. Bot. XL, 4, 588. Über die normale und die anaërobe Atmung bei Abwesenheit von Zucker. Ber. d. Deutschen bot. Ges. Bd. XXII., pag 207 (1904). Über Atmungsenzyme der Schimmelpilze.

<sup>5</sup> Chem. Vorgänge im zellfreien Gewebesaft von Arum m. Ber. d. Deutschen chem. Ges. XXXIII., 3555 (1900), ferner: Scheel, Ber. d. Deutschen bot. Ges. XX., 98 (1902).

1. Die verwendete Preßhefe zeigte auf 10prozentiger Rohrzuckerlösung nach vorhergegangener progressiver Erhitzung im lufttrockenen Zustande eine vorübergehende Erhöhung sowohl der Atmungs- als auch der Gärtätigkeit bis  $50^{\circ}$ , worauf mit Steigerung der Temperatur eine allmähliche regelmäßige Intensitätsabnahme beider Prozesse bis  $110^{\circ}$  stattfand. Das prozentische Verhältnis der in den beiden korrespondierenden Vorgängen ausgeschiedenen  $\text{CO}_2$  mengen erhielt sich bis zu diesem Punkte fast konstant.

2. Bei  $130^{\circ}$  erscheint der größte Teil der Zymase unwirksam gemacht, die ausgeschiedene  $\text{CO}_2$  fällt zum größten Teil auf Rechnung der toten Oxydation, welche an diesem Punkte eine viel stärkere Exhalation von  $\text{CO}_2$  und Aufnahme von Sauerstoff zeitigt, als dies während der mit der Gärung korrespondierenden physiologischen Verbrennung der Fall war.  $\text{CO}_2$  abgabe und Sauerstoffaufnahme sind offenbar das Werk von Fermenten, denn dieselben Erscheinungen kehrten wieder, wenn der Organismus durch rein chemische Mittel getötet, die Wirkung der toten Oxydation geprüft und dann noch auf die Entfernung der Fermente hingewirkt worden war. Bei  $190^{\circ}$  erfuhr die tote Oxydation eine rapide Verminderung, ohne jedoch gänzlich aufzuhören, vermutlich durch Ausschaltung der Fermentwirkung, die im bedeutend geschwächten Maße — vielleicht durch einen anorganischen Katalysator — fortgesetzt wurde, um zwischen  $200$  bis  $205^{\circ}$  völlig eingestellt zu werden.

3. Die mit  $\text{CO}_2$  exhalation verbundene Oxydation der bradydablen Substanzen findet nach erfolgter Erhitzung des Organismus auf  $205^{\circ}$  nicht mehr statt, wohl aber noch eine weitere geringe Aufnahme von Sauerstoff, so daß die Vermutung eines getrennten, wenn auch korrelativen Ablaufes beider Prozesse, etwa durch das Wirken zweier verschiedener entsprechender Enzyme, nahe liegt.

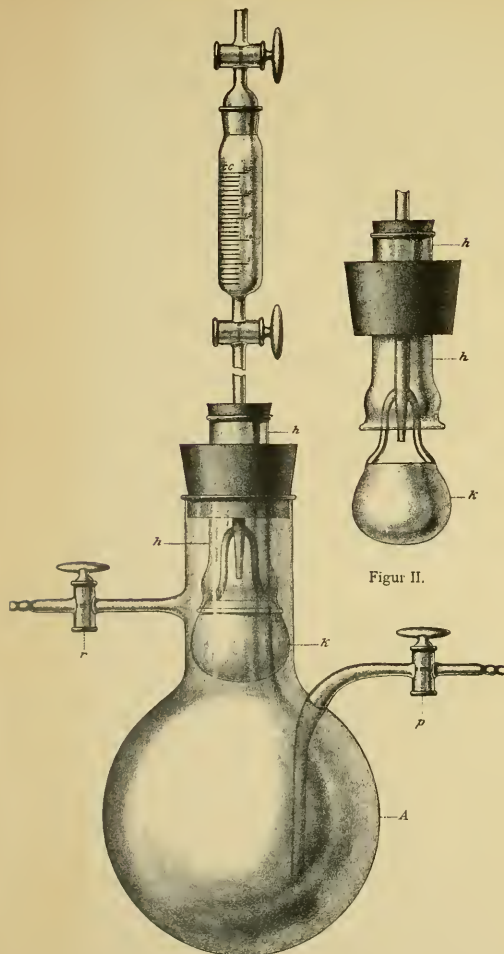
4. Ganz analoge Verhältnisse wurden bei getöteten Blättern von *Eupatorium adenophorum* beobachtet.

5. Ob die tote Oxydation ganz allgemein so zur Geltung kommt wie in den untersuchten Fällen und ob sie sich erst postmortal einstellt oder vielleicht schon in der physiologischen

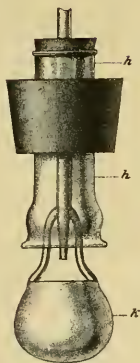
Verbrennungstätigkeit des lebenden Plasmas enthalten ist, kann auf Grund der angestellten Versuche noch nicht entschieden werden.

Es ist mir eine angenehme Pflicht, meinem hochverehrten Lehrer, Herrn Hofrat Prof. Dr. Julius Wiesner, der meine Untersuchungen jederzeit mit Rat und Tat förderte, auch an dieser Stelle meinen ergebensten Dank auszusprechen.

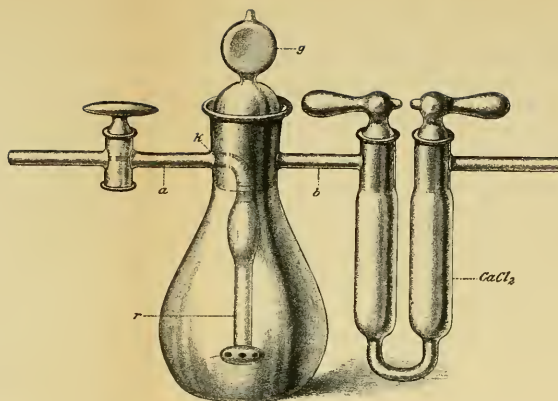




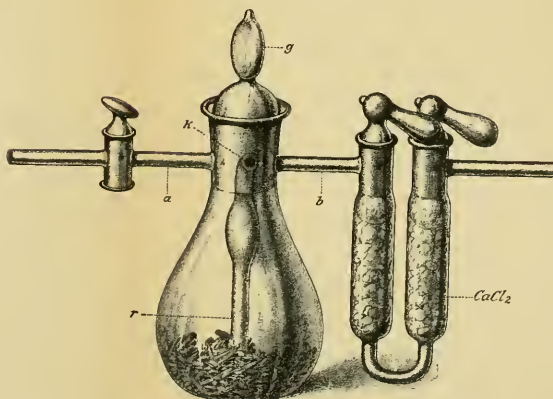
Figur I.



Figur II.



Figur III.



Figur IV.